

PURINMETABOLITE
IM SERUM VERSCHIEDENER PRIMATEN

Gernot Schreiber

Diss
München
1984





Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Institut für
Physiologie, Physiologische Chemie und Ernährungsphysiologie
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München

Geschäftsführender Vorstand: Prof. Dr. H. Zucker

Angefertigt unter Leitung von
Prof. Dr. H. Zucker

PURINMETABOLITE IM SERUM VERSCHIEDENER PRIMATEN

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Gernot Schreiber
aus
Rosenheim

München 1984

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. W. Leidl

Referent: Prof. Dr. H. Zucker

Korreferent: Prof. Dr. W. Kraft

Tag der Promotion: 27. Juli 1984

Meiner Frau

1.	Meiner Frau	1
2.	Meiner Frau	2
3.	Meiner Frau	3
4.	Meiner Frau	4
5.	Meiner Frau	5
6.	Meiner Frau	6
7.	Meiner Frau	7
8.	Meiner Frau	8
9.	Meiner Frau	9
10.	Meiner Frau	10
11.	Meiner Frau	11
12.	Meiner Frau	12
13.	Meiner Frau	13
14.	Meiner Frau	14
15.	Meiner Frau	15
16.	Meiner Frau	16
17.	Meiner Frau	17
18.	Meiner Frau	18
19.	Meiner Frau	19
20.	Meiner Frau	20
21.	Meiner Frau	21
22.	Meiner Frau	22
23.	Meiner Frau	23
24.	Meiner Frau	24
25.	Meiner Frau	25
26.	Meiner Frau	26
27.	Meiner Frau	27
28.	Meiner Frau	28
29.	Meiner Frau	29
30.	Meiner Frau	30
31.	Meiner Frau	31
32.	Meiner Frau	32
33.	Meiner Frau	33
34.	Meiner Frau	34
35.	Meiner Frau	35
36.	Meiner Frau	36
37.	Meiner Frau	37
38.	Meiner Frau	38
39.	Meiner Frau	39
40.	Meiner Frau	40
41.	Meiner Frau	41
42.	Meiner Frau	42
43.	Meiner Frau	43
44.	Meiner Frau	44
45.	Meiner Frau	45
46.	Meiner Frau	46
47.	Meiner Frau	47
48.	Meiner Frau	48
49.	Meiner Frau	49
50.	Meiner Frau	50
51.	Meiner Frau	51
52.	Meiner Frau	52
53.	Meiner Frau	53
54.	Meiner Frau	54
55.	Meiner Frau	55
56.	Meiner Frau	56
57.	Meiner Frau	57
58.	Meiner Frau	58
59.	Meiner Frau	59
60.	Meiner Frau	60
61.	Meiner Frau	61
62.	Meiner Frau	62
63.	Meiner Frau	63
64.	Meiner Frau	64
65.	Meiner Frau	65
66.	Meiner Frau	66
67.	Meiner Frau	67
68.	Meiner Frau	68
69.	Meiner Frau	69
70.	Meiner Frau	70
71.	Meiner Frau	71
72.	Meiner Frau	72
73.	Meiner Frau	73
74.	Meiner Frau	74
75.	Meiner Frau	75
76.	Meiner Frau	76
77.	Meiner Frau	77
78.	Meiner Frau	78
79.	Meiner Frau	79
80.	Meiner Frau	80
81.	Meiner Frau	81
82.	Meiner Frau	82
83.	Meiner Frau	83
84.	Meiner Frau	84
85.	Meiner Frau	85
86.	Meiner Frau	86
87.	Meiner Frau	87
88.	Meiner Frau	88
89.	Meiner Frau	89
90.	Meiner Frau	90
91.	Meiner Frau	91
92.	Meiner Frau	92
93.	Meiner Frau	93
94.	Meiner Frau	94
95.	Meiner Frau	95
96.	Meiner Frau	96
97.	Meiner Frau	97
98.	Meiner Frau	98
99.	Meiner Frau	99
100.	Meiner Frau	100

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1. EINLEITUNG	1
2. LITERATURÜBERSICHT	3
2.1. Purinstoffwechsel	3
2.1.1. Allgemeine Grundlagen	3
2.1.2. Tierartliche Besonderheiten	3
2.1.3. Rolle des Blutes	5
2.1.4. Nahrungspurine	6
2.1.5. Enzyme des Purinstoffwechsels	8
2.1.6. Ausscheidung der Purinmetabolite	9
2.2. Purinmetabolitkonzentrationen in Primatenserem	11
2.3. Taxonomie der Primaten	13
2.4. Ursprung der Neuweltaffen	13
2.5. Analytik der Purinmetabolite	14
3. PROBLEMSTELLUNG	17
4. EIGENE UNTERSUCHUNGEN	19
4.1. Material und Methoden	19
4.1.1. Tiermaterial und Tierhaltung	19
4.1.2. Probengewinnung und -aufbewahrung	26
4.1.3. Analytische Methode	27
4.1.3.1. Chromatographische Bedingungen	27
4.1.3.2. Probenvorbereitung	28
4.1.3.3. Auswertungsverfahren	28
4.1.4. Purinbelastungsversuch	29
4.1.5. Statistische Methoden	32
4.2. Versuchsergebnisse	33
4.2.1. Analytische Methodik	33
4.2.1.1. Säule und Trennmaterial	33
4.2.1.2. Absorptionsspektren der Purinmetabolite	34
4.2.1.3. Elutionsmittel und Flußrate	39
4.2.1.4. Gerinnungshemmer und Probenaufbewahrung	40
4.2.1.5. Enteiweißung der Proben	41
4.2.1.6. Standards	42
4.2.1.7. Überprüfung der methodischen Bedingungen	44

		Seite
4.2.2.	Analytische Ergebnisse	47
4.2.2.1.	Ceboidea	47
4.2.2.2.	Cercopithecoidea	56
4.2.2.3.	Hominoidea	59
4.2.2.4.	Korrelationen im gesamten Untersuchungsmaterial	63
4.2.2.5.	Purinbelastungsversuch	63
5.	DISKUSSION	67
5.1.	Analytik der Purinbasen	67
5.2.	Beeinflussung der Purinmetabolitkonzentrationen	68
5.2.1.	Intensive Bewegung	68
5.2.2.	Blutzellen	70
5.2.3.	Haltungsbedingungen	71
5.2.4.	Sexualhormone	72
5.3.	Purinbelastungsversuch	74
5.4.	Individuelle und Spezies- unterschiede im Purinstoffwechsel	75
6.	ZUSAMMENFASSUNG	78
7.	SUMMARY	79
8.	LITERATURVERZEICHNIS	80

1. Einleitung

Ägyptische und indische Götterstandbilder, chinesische und japanische Gemälde und Schnitzereien sowie die griechische und römische Mythologie bezeugen unter anderem, daß sich die Menschheit schon sehr früh mit Affen beschäftigt hat. Im vierten Jahrhundert vor Christus sammelte ARISTOTELES das bis dahin bekannte Wissen bezüglich der Affen in seinem Werk über die Tierwelt. Etwa sechshundert Jahre später seziierte der berühmte Arzt GALEN VON PERGAMON bereits Makaken, um so näheren Aufschluß über die Anatomie des Menschen zu bekommen. Im Jahre 1863, also erst vor 120 Jahren, erschien das Werk: 'Evidence as to man's place in nature' von THOMAS HENRY HUXLEY, in dem er in konsequenter Fortführung der Evolutionstheorie von CHARLES DARWIN die Entwicklung von Mensch und Affen auf eine gemeinsame Wurzel zurückführte. Seither hat sich die Forschung in zunehmendem Maße mit den Affen beschäftigt und dabei einiges von dem alten Wissen bestätigt, aber auch vieles zurechtgerückt. So mußte die früher angenommene große Übereinstimmung zwischen Mensch und Affen auf die Hominoidea - die Menschenaffen - und hierbei insbesondere auf die Pongiden begrenzt werden (nach SCHULTZ, 1971, und ANKEL, 1970).

Eines der Merkmale, das bei den Säugetieren nach den bisherigen Erkenntnissen nur von den Menschenaffen mit dem Menschen geteilt wird, ist der Verlust des Enzyms Uricase. Dadurch endet der Abbau der Purine eher und die Hominoidea sind gezwungen, statt des gut wasserlöslichen Allantoins die schwerer lösliche Harnsäure auszuscheiden.

Dagegen besitzen die übrigen simischen Primaten von Europa, Asien und Afrika, auch Altweltaffen oder Catarrhini genannt, die Uricase und haben somit einen für Säugetiere noch vollständigen Purinstoffwechsel.

Die simischen Primaten von Süd- und Mittelamerika, die Neuweltaffen oder Platyrrhini, nehmen eine Art Mittelstellung ein. Je nach Spezies besitzen sie ein mehr oder weniger leistungsfähiges System zum Abbau der Harnsäure. Sie scheiden deshalb teils Harnsäure, teils Allantoin aus. In ihrem Blut läßt sich ebenfalls Harnsäure nachweisen, die bei den Kapuziner-Affen fast ähnlich hohe Konzentrationen wie beim Menschen erreichen kann (FANELLI und BEYER, 1975).

2. Literaturübersicht

2.1. PURINSTOFFWECHSEL

2.1.1. ALLGEMEINE GRUNDLAGEN

Die Purine bestehen aus jeweils einem heterozyklischen Fünfer- und Sechsering mit unterschiedlichen Liganden. Sie kommen als Basen aber auch in Nucleosiden und Nucleotiden vor. Sie sind wesentlicher Bestandteil aller Nucleinsäuren und haben ihre biologische Funktion in der Codierung der Erbinformation, in der Proteinbiosynthese sowie in der Triphosphatform der Nucleotide als Energieträger im Stoffwechsel. Ihre körpereigenen Vertreter sind bei den Nucleosiden und Nucleotiden das Adenosin, das Inosin, das Xanthosin und das Guanosin sowie die zugehörigen Basen Adenin, Hypoxanthin, Xanthin und Guanin (KARLSON, 1980).

Ausgehend vom Ribose-5-phosphat kann der Körper die Purine schrittweise selbst synthetisieren, wobei die Bausteine vorwiegend aus dem Aminosäurenstoffwechsel stammen (BUDDECKE, 1980). Teilweise sollen aber auch aus der Nahrung stammende Purinbasen direkt eingebaut werden (D'MELLO, 1982). Ein Schema über den Metabolismus der Purine zeigt Abbildung 1.

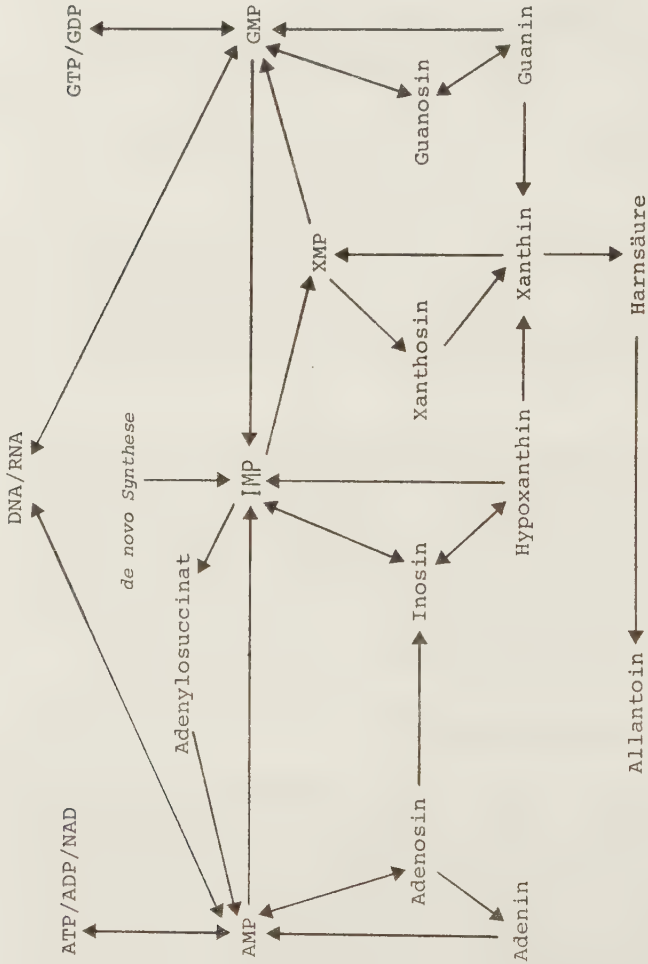
2.1.2. TIERARTLICHE BESONDERHEITEN

Von Tierart zu Tierart ist das Endprodukt des Purinabbaues recht unterschiedlich. Spinnen scheiden Guanin aus (VAJROPALA, 1935), Blutegel und die Süßwasser-Muschel Anodonta das Hypoxanthin (TRUSZKOWSKI, 1928). Bei den Säugetieren nimmt man aufgrund der bisher ermittelten Daten an, daß der Abbau - von wenigen Ausnahmen abgesehen - über die Harnsäure bis zum Allantoin verläuft.

Abbildung 1

Schema des Purinstoffwechsels

umgezeichnet nach HENDERSON in ZÖLLNER (1982)



Für eine ganze Reihe anderer Tierarten wurde nachgewiesen, daß der Metabolismus von diesem Stoff über Allantoinensäure, Glyoxylsäure und Harnstoff zum Teil bis zu Ammoniak und CO_2 verläuft (GUTMAN, 1965; SØRENSEN, 1965). Parallel zur Evolution ist die Reaktionskette durch den Verlust von Enzymen immer kürzer geworden, so daß die Insekten - außer den Diptera -, die Vögel und Landreptilien sowie die Menschenaffen und der Mensch die Fähigkeit zur Uricolyse verloren haben und Harnsäure ausscheiden (KEILIN, 1959).

Diese Sonderstellung der Hominoidea innerhalb der Säugetiere wurde zuerst von WIECHOWSKI (1912 a) erkannt, der das erste exakte Verfahren zur quantitativen Analyse von Allantoin publizierte (1908) und durch seine Arbeiten über den Harnsäurestoffwechsel des Menschen (1909; 1910) zu den Untersuchungen an Schimpansen, Rhesusaffen, Pavian und grüner Meerkatze (1912 b) angeregt wurde.

OROWAN (1955) stellte in diesem Zusammenhang die Hypothese auf, daß der höhere Harnsäurespiegel im Serum eine bedeutende Rolle in der Evolution des Menschen gespielt hat.

2.1.3. ROLLE DES BLUTES

Die Konzentration der Purinmetabolite im Blut ist zu einem gewissen Grad ein Spiegel des Purinstoffwechsels. Sie ist das Ergebnis von einem Gleichgewicht zwischen de novo Synthese und Zufuhr von Nahrungspurinen einerseits und Umbau und Ausscheidung andererseits (HITCHINGS, 1978). Der endogene Anteil stammt aus dem Abbau von Nucleinsäuren und Nucleotiden durch Zellmauser und Verbrauch von energiereichen Phosphaten. So postulieren HARKNESS et al. (1983), daß das Blut als ein 'zirkulierendes Hypoxanthin-Reservoir' dient und sowohl verschiedene

Gewebe als auch die Erythrozyten bei Bedarf diese Purinbase aus dem Blut entnehmen und reutilisieren.

Ein problematischer Metabolit ist die Harnsäure, die eine schlechte Löslichkeit aufweist und in höherer Konzentration zum Auskristallisieren neigt. PETERS und VAN SLYKE (1946) ermittelten eine maximale Löslichkeit von 6,4 mg/100 ml, was 381 $\mu\text{mol/l}$ entspricht.

Für den Transport von Harnsäure im Blut und die Bestimmung der Konzentration im Plasma ist auch eine mögliche Bindung an Serum-Eiweiß von Bedeutung, da bei der Eiweißfällung unter Umständen Harnsäure mitgefällt wird. In der Literatur finden sich hierzu recht gegensätzliche Daten. Die von ALVSAKER (1966) nachgewiesene Bindung von Urat an Plasma-Proteine ist nach den Ergebnissen von FARRELL (1974) ein Artefakt. KLINENBERG und KIPPEN (1970) und CAMPION et al. (1975) fanden eine Bindung an Eiweiß, die bei Gichtpatienten herabgesetzt war. KOVARSKY et al. (1979) stellten keine signifikante Bindung von Urat an menschliche Serum-Proteine fest, während SIMKIN (1972) und GREGER et al. (1974) bei verschiedenen Tierspezies zwar eine tierartlich unterschiedliche in-vitro-Bindung ermittelten, aber die in-vivo-Bindung für unbedeutend halten bzw. mit maximal 7 bis 8 % angeben. Auch ROCH-RAMEL und PETERS (1978) gehen davon aus, daß praktisch keine Bindung von Urat an Plasma-Proteine bei Körpertemperatur vorhanden ist.

2.1.4. NAHRUNGSPURINE

Für Mensch und Tier stellen die Purine zwar keine essentiellen Nahrungsbestandteile dar, wegen ihres ubiquitären Vorkommens werden jedoch größere Mengen aufgenommen. Der Mensch zum Beispiel nimmt derzeit etwa ebenso viele Purine zu sich, wie er synthetisiert (ZÖLLNER, 1982). Die Verwertung der einzelnen Puringuellen ist recht

unterschiedlich. Nach ZÖLLNER et al. (1972) resorbiert der Mensch bei Verabreichung von Adenosinmonophosphat (AMP) oder Guanosinmonophosphat (GMP) 80 % der Purine, bei RNA etwa 60 % und bei DNA nur 30 %. Dies ist möglicherweise auf eine unterschiedliche Aufspaltung durch die Pancreasnucleasen zurückzuführen. Die Nucleotide, Nucleoside und Basen werden von den Mucosazellen des Dünndarms aufgenommen und bis zur Harnsäure abgebaut. Von dieser wird ein Teil wieder ins Darmlumen sezerniert und dort von Mikroorganismen abgebaut. Die Schleimhaut des Dünndarms stellt somit einen wesentlichen Ort der Harnsäurebildung beim Menschen dar (GRIEBSCH und KAISER, 1976).

Nach Verabreichung einer Diät mit Mikroalgen - rund 4 % Nucleinsäuregehalt - als einziger Eiweißquelle stellten GRIEBSCH und ZÖLLNER (1971) bei den Versuchspersonen eine individuell recht unterschiedliche Erhöhung des Harnsäurespiegels im Plasma fest. Die Werte von 9 bis 13 mg/100 ml (535 bis 773 $\mu\text{mol/l}$) sind jedoch in jedem Fall als Hyperurikämie mit Gichtisiko anzusehen. Es wird deshalb als obere Grenze eine tägliche Zulage von rund 20 g Algenprotein angegeben, die auch von FELDHEIM et al. (1973) bestätigt wird. Die endogene Harnsäure-Synthese wird beim Menschen durch Nahrungspurine nicht gehemmt (LÖFFLER et al., 1982).

Von den Dalmatiner-Hunden ist seit BENEDICT (1916) bekannt, daß sie sich wie auch einige Primaten von allen anderen Säugetieren dadurch unterscheiden, daß sie neben Allantoin auch Harnsäure ausscheiden. MAIER (1979) ermittelte bei ihnen eine hochsignifikante lineare Beziehung zwischen Purinaufnahme und Harnsäurekonzentration im Plasma nach Fütterung mit purinreichem bakteriellem Einzellerprotein. Die metabolische Verfügbarkeit der aufgenommenen Purine wurde von GIESECKE et al. (1982) mit 57 % ermittelt.

Bei einer vergleichbaren Diät mit Hefe-RNA als Purinquelle wurden jedoch deutlich niedrigere Plasmakonzentrationen der Harnsäure festgestellt (GAEBLER, 1981).

Sehr gute Übersichten über den bisherigen Kenntnisstand des Purinstoffwechsels von monogastrischen Tieren bieten GIESECKE und TIEMEYER (1982) und D'MELLO (1982).

2.1.5. ENZYME DES PURINSTOFFWECHSELS

An dem gesamten Stoffwechsel der Purine ist eine Vielzahl kataboler und anaboler Enzyme beteiligt. Eine gute Übersicht bietet ZÖLLNER (1982).

Die Uricase, das Enzym, das Harnsäure in Allantoin umwandelt, ist - neben anderen Enzymen - in den Peroxisomen der Leber lokalisiert (DE DUVE und BAUDHUIN, 1966). Bei Rind und Hund wurde sie von HRUBAN und RECHCIGL (1969) auch in der Niere nachgewiesen, während bei der Maus ein Vorkommen auch außerhalb der Peroxisomen im endoplasmatischen Retikulum und in den Golgi-Vakuolen festgestellt wurde (MASTERS und HOLMES, 1977).

WELLS untersuchte als erster Primaten auf Uricaseaktivität. In der Leber von Rhesusaffen fand er das Enzym (WELLS, 1910), während bei Schimpanse und Orang-Utan keine Aktivität ermittelt werden konnte (WELLS und CALDWELL, 1914). CHRISTEN et al. (1970 a, 1970 b) stellten bei Altweltaffen mit in vitro Versuchen eine relativ instabile Uricaseaktivität fest und fanden bei zwei Spezies von Kapuzineraffen keine Aktivität in der Leber. Im Gegensatz dazu ergaben sich bei SIMKIN et al. (1970) eindeutige Anzeichen für das Vorhandensein von Uricase in der Leber dieser beiden Affenarten. Auch FANELLI et al. (1970) stellten außer bei den Menschenaffen nur bei einem Exemplar des Goldstirn-Klammeraffen (*Ateles belzebuth*)

ein Fehlen der Uricase fest. Von dem Wollaffen (*Lagothrix lagothericha*) wird berichtet, daß er nur ein Minimum von anfallender Harnsäure in Allantoin umwandelt (LOGAN et al., 1976).

Ein weiteres wichtiges Enzym für den Abbau der Purine ist die Xanthin-Oxidase. Sie katabolisiert die Schritte vom Hypoxanthin zum Xanthin und von dort zur Harnsäure. Eine nennenswerte Gewebeaktivität tritt beim Menschen neben der Leber nur im Jejunum auf (MOUSSON et al., 1983, und WATTS et al., 1965).

2.1.6. AUSSCHIEDUNG DER PURINMETABOLITE

Das jeweilige Endprodukt des Purinstoffwechsels der Säugetiere, also weitaus überwiegend Allantoin, bei Mensch und Menschenaffen Harnsäure und bei Dalmatinern und vielen Neuweltaffen beides, wird in erster Linie über die Nieren ausgeschieden, aber auch zum Teil durch den Darm.

Durch umfangreiche Studien mit radioaktiv markierter Harnsäure wurde nachgewiesen, daß beim Menschen nur etwa 60 bis 70 % von intravenös verabreichter Harnsäure im Urin erscheinen. Der Rest ist nur dann im Stuhl nachzuweisen, wenn soweit als möglich versucht wird, die Flora des Magen-Darm-Traktes auszuschalten. Diese metabolisiert Harnsäure so vollständig, daß ein großer Prozentsatz der Radioaktivität im CO₂ der Expirationsluft erscheint (SØRENSEN, 1965).

Bei in vitro Versuchen mit Darmsäckchen von Goldhamstern fanden BERLIN und HAWKINS (1968) eine aktive Sekretion von Hypoxanthin, Xanthin und Harnsäure in das Darmlumen. DUKES et al. (1982) stellten an Darmsäckchen der Ratte für Harnsäure nur eine normale Diffusion fest.

Insgesamt ist die Rolle des Verdauungstraktes an der Elimination der Harnsäure schwer abzugrenzen, da an der Sekretion in einem hohen Maße die Speicheldrüsen, der Magen und die Leber beteiligt sind (ZÖLLNER, 1982).

Von der renalen Ausscheidung der Harnsäure läßt sich nach dem derzeitigen Kenntnisstand ganz allgemein sagen, daß sie ein Produkt ist aus glomerulärer Filtration, tubulärer Reabsorption und tubulärer Sekretion. Filtriert werden je nach Autor und Tierart 97 bis 100 % der Serum-Harnsäure. Im anschließenden proximalen Tubulusabschnitt findet der größte Teil des Harnsäuretransportes statt. Bei einigen Tierarten wurde in diesem Teil sowohl Reabsorption als auch Sekretion festgestellt. Bei anderen Tieren wird erst in der pars recta sezerniert (WEINER, 1979). Der Carrier für die Harnsäuresekretion soll bei einigen Tierarten identisch mit dem für die Sekretion des Paraaminohippurats sein (DISKIN, 1981).

Die meisten Studien über die Funktion von Affennieren wurden an verschiedenen Kapuzinerarten durchgeführt, da sich deren Nieren sehr ähnlich wie die menschlichen verhalten. ROCH-RAMEL et al. (1980) ermittelten bereits im proximalen Tubulusabschnitt eine Reabsorption von über 70 %, die sich dann in der pars recta vermindert fortsetzt, so daß im ersten Teil des distalen Tubulus nur mehr 9 % der filtrierten Harnsäure gemessen werden können. Diese Reabsorption der Harnsäure unterscheidet die Neuweltaffen und die Hominoidea von den übrigen Altweltaffen. Bei diesen wurde nach Harnsäurebelastung durch intravenöse Infusion eine reine Sekretion festgestellt (FANELLI et al., 1970).

Für das gut wasserlösliche Allantoin (3,8 bis 6,3 mmol/l) ermittelten sowohl FRIEDMAN und BYERS als auch YÜ et al. beim Hund eine Clearance, die etwa derjenigen von Creatinin

entspricht, wobei lediglich YÜ et al. bei sehr niedrigen Flußraten eine leichte Reabsorption feststellten (nach GREGER et al., 1976). Bei Versuchen mit radioaktiv markierter Harnsäure stellten GREGER et al. (1975) an der Rattenniere eine Allantoin-Clearance fest, die derjenigen von Inulin entspricht, wobei keinerlei Reabsorption oder Sekretion beobachtet wurde.

Die Clearance von Xanthin und Hypoxanthin entspricht nach GOLDFINGER et al. (1965) derjenigen von Creatinin.

2.2. PURINMETABOLITKONZENTRATIONEN IN PRIMATENSEREN

In Human-Serum ist bisher sowohl der Gehalt an Harnsäure als auch der an Hypoxanthin, Xanthin und Allantoin bestimmt worden. Für Männer geben GRIEBSCH und ZÖLLNER (1973) eine mittlere Harnsäure-Konzentration von $357 \pm 73 \mu\text{mol/l}$ an und für Frauen $259 \pm 63 \mu\text{mol/l}$. Die mittlere Hypoxanthin-Konzentration für Menschen wird von HARKNESS et al. (1983) mit $1,6 \pm 0,7 \mu\text{mol/l}$ angegeben und von BOULIEU et al. (1983) mit $2,5 \pm 1 \mu\text{mol/l}$, die für Xanthin einen Wert von $1,4 \pm 0,7 \mu\text{mol/l}$ verzeichnen. Allantoin ist im menschlichen Blut nach CHRISTMAN et al. (1944) nicht vorhanden, während STAHL et al. (1970) einen Mittelwert von $8,1 \pm 2,45 \text{ mg/l}$ entsprechend $51 \pm 15,5 \mu\text{mol/l}$ bestimmt haben.

Für Affen-Seren finden sich in der Literatur nur Angaben über die Konzentration von Harnsäure. Aus der Fülle der Daten werden auszugsweise einige zitiert. Für teils juvenile, teils erwachsene Schimpansen (*Pan troglodytes*) geben STATEN et al. (1961) einen Bereich von 2,7 bis 5,8 mg/100 ml, entsprechend 161 bis 345 $\mu\text{mol/l}$, an. FANELLI et al. (1970) ermittelten für männliche Schimpansen einen Bereich von 2 bis 5 mg/100 ml (119 bis 298

$\mu\text{mol/l}$), für weibliche von 4 bis 5 mg/100 ml (238 bis 297 $\mu\text{mol/l}$) und MC CLURE et al. (1972) geben 1,7 bis 9,8 mg/100 ml (101 bis 583 $\mu\text{mol/l}$) an. Für den Gorilla (*G. gorilla*) verzeichnen CLEVENGER et al. (1971) einen Bereich von 2,2 bis 2,7 mg/100 ml (131 bis 161 $\mu\text{mol/l}$).

Für die verschiedenen Kapuzinerarten (*Cebus* sp.) geben FANELLI et al. (1970) jeweils Werte von 1,5 bis 6 mg/100 ml (89 bis 357 $\mu\text{mol/l}$) an. Bei dem Totenkopffäffchen (*Saimiri sciureus*) ergeben sich nach BELAND et al. (1979) für männliche bzw. weibliche Wildfänge Werte von 1,5 $\pm$ 0,4 mg/100 ml (89 $\pm$ 24 $\mu\text{mol/l}$) bzw. 1,2 $\pm$ 0,4 mg/100 ml (71 $\pm$ 24 $\mu\text{mol/l}$) und für männliche bzw. weibliche Zucht-kolonie-Tiere Werte von 2,2 $\pm$ 0,9 mg/100 ml (131 $\pm$ 53 $\mu\text{mol/l}$) bzw. 2,0 $\pm$ 0,7 mg/100 ml (119 $\pm$ 42 $\mu\text{mol/l}$), während FANELLI et al. (1970) nur Werte unter 0,5 mg/100 ml (30 $\mu\text{mol/l}$) ermittelten. Für den Nachtaffen (*Aotus trivirgatus*) finden sich bei WELDE et al. (1971) Durchschnittswerte von 0,5 mg/100 ml (30 $\mu\text{mol/l}$).

Bei den Krallenenaffen wurden für das Lisztäffchen (*Saguinus oedipus*) von CHRISTEN, P. et al. (1970 a) 2,1 mg/100 ml (125 $\mu\text{mol/l}$) und von HOLMES et al. (1967) 0 bis 7,7 mg/100 ml (0 bis 458 $\mu\text{mol/l}$) ermittelt. Die letztere Arbeit gibt für 'Tamarins' (eventuell Schnurrbarttamarin = *Saguinus mystax*) einen Wert von 0,6 bis 3,1 mg/100 ml (36 bis 184 $\mu\text{mol/l}$) an.

Für Rhesusaffen (*Macaca mulatta*) finden sich bei CHRISTEN, P. et al. (1970 a) 0,3 mg/100 ml (18 $\mu\text{mol/l}$) bzw. bei FANELLI et al. (1970) weniger als 0,5 mg/100 ml (30 $\mu\text{mol/l}$) und für Javaner-Makaken (*Macaca fascicularis*) bei CHRISTEN, P. et al. (1970 a) 0,5 mg/100 ml (30 $\mu\text{mol/l}$). Bei dem grünen Pavian (*Papio anubis*) bestimmten FANELLI et al. (1970) weniger als 0,5 mg/100 ml (30 $\mu\text{mol/l}$).

FANELLI und BEYER (1975) zitieren BURNS mit einem Serum-Harnsäurespiegel des Dschelada (*Theropithecus gelada*) von 1,2 mg/100 ml (71 μ mol/l). Diese Arbeit stellt auch gleichzeitig eine ausgezeichnete Literaturübersicht dar.

2.3. TAXONOMIE DER PRIMATEN

Die Taxonomie der Primaten stellt sich derzeit in der Literatur keineswegs einheitlich dar. Es besteht deshalb die Notwendigkeit, sich für eines der verschiedenen Einteilungssysteme zu entscheiden. FANELLI und BEYER (1975) - Autoren, die sich intensiv mit Harnsäurestudien an Primaten beschäftigt haben - empfehlen neben der Systematik von CHIARELLI auch das weit verbreitete Werk von NAPIER und NAPIER.

Die Zuordnung der einzelnen in dieser Arbeit untersuchten Spezies bereitet innerhalb der verschiedenen Systeme keine Schwierigkeiten, mit Ausnahme der teilweise stark divergierenden Unterteilung der Totenkopffäffchen. So erkennt CABRERA nur eine Art mit sechs Unterarten an. MAC'LEAN dagegen beschreibt zwei verschiedene Typen, die sich durch die Form der weißen Bänder um die Augen unterscheiden. Der 'gotische Typ' weist Spitzbögen auf und der 'romanische Typ' flache Rundbögen (Zitate nach GROVES, 1972). HEINEMANN (1967) unterteilt in vier Arten, während NOWAK und PARADISO (1983) mit *Saimiri sciureus* und *S. oerstedii* dieselben zwei Spezies angeben wie NAPIER und NAPIER (1967), aber darauf verweisen, daß die zweite Art teilweise als Unterart angesehen wird.

2.4. URSPRUNG DER NEUWELTAFFEN

Über die Entstehungsgeschichte der Neuweltaffen und die Besiedelung Süd- und Mittelamerikas durch sie gibt es verschiedene Theorien (siehe CIOCHON und CHIARELLI,

1980 a). Nach dem derzeitigen Wissensstand sprechen die meisten Daten dafür, daß Neu- und Altweltaffen einen gemeinsamen Vorfahren haben und sich nicht unabhängig voneinander aus Halbaffen entwickelten (BABA et al., 1980, und THENIUS, 1980). Die Besiedelung Südamerikas durch die Platyrrhini ist wahrscheinlich im Früh-Tertiär von Westafrika aus erfolgt. Der damals noch schmale Südatlantik trennte zwar schon den neuen Kontinent von Afrika, aber eine Inselbrücke zwischen den heutigen Ländern Brasilien und Sierra Leone, unterstützt durch eine vorherrschende Ost-West-Strömung von Luft und Wasser (TARLING, 1980) dürfte die Verbreitung von Tieren und Pflanzen in dieser Richtung ermöglicht haben (CIOCHON und CHIARELLI, 1980 b). Für Nagetiere erscheint dieser Ausbreitungsweg als gesichert (STARCK, 1978).

2.5. ANALYTIK DER PURINMETABOLITE

Die meisten Bestimmungsmethoden von Allantoin bedienen sich der chemischen Umwandlung über Allantoinsäure in Glyoxylsäure mit einer anschließenden Farbreaktion (YOUNG und CONWAY, 1942; CHRISTMAN et al., 1944; BORCHERS, 1977; HORNAWSKY und MÜLLER, 1980). ABRAHAM et al. (1976) erreichten eine bessere Abtrennung von dem Untersuchungsmaterial durch Anwendung der Dünnschichtchromatographie, und SUMI et al. (1976) wenden eine spektral-fluorometrische Methode zur Quantifizierung an. Aufgrund methodischer Arbeiten von TIEMEYER et al. (1981) beschreibt GAEBLER (1981) als erster ein Trennverfahren mit Hilfe der Hochdruck-Flüssigkeits-Chromatographie und Messung der Absorptionsintensität im UV-Bereich. ZAIDI et al. (1982) wenden ein ähnliches Nachweisverfahren an, und TIEMEYER und GIESECKE (1982) beschreiben ein vereinfachtes und verbessertes Verfahren nach dem gleichen Grundprinzip wie GAEBLER (1981).

Die Reduktion chromogener Reagentien durch Harnsäure war eines der ersten Bestimmungsverfahren für diesen Purin-metabolit, das später durch Messungen der Farbtintensität vor und nach der Zugabe von Uricase hinsichtlich unspezifischer Reduktionsvorgänge korrigiert werden konnte. Das bei der Umwandlung von Harnsäure in Allantoin durch die Uricase frei werdende Wasserstoffperoxyd kann entweder zu einem fluorometrischen Test oder zu einer Farbreaktion (enzymatischer Farbttest) benutzt werden. Man kann jedoch auch den Abfall der Extinktion beim Absorptionsmaximum der Harnsäure (= 293 nm) nach Zugabe von Uricase messen oder den Sauerstoffverbrauch der enzymatischen Reaktion (MÜLLER et al., 1974).

In neuerer Zeit setzt sich immer mehr die Hochdruck-Flüssigkeits-Chromatographie als Trennmethode durch, wobei überwiegend die Absorptionsintensität bei verschiedenen Wellenlängen im UV-Bereich als Maßstab für die Konzentration herangezogen wird (MILNER und PERKINS, 1978; KISER et al., 1978; ZAKARIA und BROWN, 1981), aber auch Spannungsdifferenzen an einer elektrochemischen Elektrode (KISSINGER und PACHLA, 1975). In einem Vergleich mehrerer Trennmaterialien ergeben sich bei MILLER et al. (1982) die besten Werte für das Umkehrphasen-Material ODS.

Die quantitative Bestimmung von Hypoxanthin und Xanthin durch eine enzymatische Methode ist nur für beide Stoffe insgesamt möglich, da die Umwandlung von beiden durch das gleiche Enzym, die Xanthin-Oxidase, katalysiert wird. Deshalb hat sich auch hier die Hochdruck-Flüssigkeits-Chromatographie als Methode der Wahl durchgesetzt (SAUGSTAD et al., 1982; BOULIEU et al., 1982; PFADENHAUER, 1973).

Ein Verfahren zur gleichzeitigen Bestimmung von Hypoxanthin, Xanthin und Harnsäure mit Hochdruck-Flüssigkeits-Chromatographie und UV-Detektion beschreiben BROWN et al. (1979) und WUNG und HOWELL (1980).

Eine simultane Quantifizierung von Hypoxanthin, Xanthin, Harnsäure und Allantoin ist in der Literatur bisher noch nicht beschrieben worden.

3. Problemstellung

Bisher wurde bei Affen nur der Plasma- und Urinspiegel von Harnsäure und vereinzelt die Konzentration von Allantoin im Harn untersucht. Die Vorstufen Hypoxanthin und Xanthin blieben ebenso unbeachtet wie das Vorkommen von Allantoin im Serum. Deshalb sollte das Vorkommen aller vier Abbauprodukte des Purinstoffwechsels im Serum von verschiedenen Alt- und Neuweltaffen gleichzeitig quantifiziert und zu Vergleichszwecken auch Bestimmungen in menschlichem Serum durchgeführt werden.

Die bisher publizierten Harnsäure-Daten der süd- und mittelamerikanischen Affen sind von Spezies zu Spezies teilweise recht unterschiedlich. Deshalb sollte zusätzlich untersucht werden, ob bei diesen Primaten auch die Serumkonzentrationen von Allantoin, Xanthin und Hypoxanthin entsprechende Unterschiede aufweisen und ob die ermittelten Daten eine Unterscheidung der einzelnen Arten zulassen, die der taxonomischen Einteilung entspricht.

Um später den Stoffwechsel einzelner Affenspezies unter einer Belastung durch erhöhte Anteile an Nahrungspurinen genauer untersuchen zu können, sollte an Krallenaffen festgestellt werden, ob diese Tiere Futter aufnehmen, bei dem der Purinanteil durch Zugabe von purinreichem Einzellerprotein (SCP = single cell protein) erhöht wurde. Bei einer Tolerierung des Futters sollten dessen Auswirkungen auf die Serumkonzentration der einzelnen Purinmetabolite untersucht werden.

Für die Analytik war die von TIEMEYER und GIESECKE (1982) beschriebene Methode zur Bestimmung von Allantoin mit Hilfe der Hochdruck-Flüssigkeits-Chromatographie so

weiterzuentwickeln, daß in den verschiedensten Affen-
seren unter den gleichen chromatographischen Bedingungen
Hypoxanthin, Xanthin, Harnsäure und Allantoin simultan
quantifiziert werden können.

4. Eigene Untersuchungen

4.1. MATERIAL UND METHODEN

4.1.1. TIERMATERIAL UND TIERHALTUNG

Es wurden 148 Blutproben und eine Harnprobe von 18 verschiedenen Spezies simischer Primaten untersucht. Das ursprüngliche Ziel, möglichst große Tierzahlen von den einzelnen Spezies zu bekommen, bei gleichmäßiger Verteilung von Männchen und Weibchen sowie etwa gleichem Alter der Individuen, war nicht überall zu erreichen, da nur mit Fremdmaterial gearbeitet werden konnte.

Alle untersuchten Tiere waren schon seit mindestens einem Jahr in Gefangenschaft, zum Teil auch da geboren, zum Teil Wildfänge. Das exakte Alter war deshalb nicht bei allen feststellbar. Die beiden Gorillas, die zwei Zwergschimpansen und der Krallenneffe, von dem die Harnprobe stammt, waren juvenil, alle anderen Tiere sind als adult und zuchtfähig einzustufen. Erkennbar trächtige oder säugende Tiere wurden nicht in die Untersuchung miteinbezogen, ebenso keine in schlechtem Allgemeinzustand. Eine Ausnahme hiervon bilden lediglich der Orang-Utan und die vier erkrankten Krallenaffen, deren Analyseergebnisse zusammen mit den entsprechenden Befunden gesondert aufgeführt sind (Tabellen 17 und 24). Bei der Auswertung der Ergebnisse blieben diese Proben unberücksichtigt. Keines der Tiere war zum Zeitpunkt der Probenentnahme durch andere Versuche oder Untersuchungen belastet. Das exakte Körpergewicht war nicht von allen Individuen zu bekommen. Das Tiermaterial kann innerhalb der Spezies nicht als homogen betrachtet werden.

Die Zusammensetzung des Futters für sämtliche Krallenaffen ist der Tabelle 2 zu entnehmen, es wurde aus der

Diät entwickelt, die FLURER et al. (1983) veröffentlicht haben. Die Paviane und die Javanermakaken des Institutes für Chirurgische Forschung der Universität München erhielten das gleiche Futter, ergänzt durch verschiedenes Obst. Die Makaken der Gesellschaft für Strahlen- und Umweltforschung erhielten ein Milchaustausch-Futter (Salvana Werke, Elmshorn) mit zusätzlichen Obst- und Gemüsegaben. Die Totenkopffäffchen des Max-Planck-Institutes für Psychiatrie bekamen ein Futter, das überwiegend auf Haferflocken aufgebaut ist, diese sind sehr RNA-haltig (TIEMEYER, persönliche Mitteilung). Dem Totenkopffäffchen und den Nachtaffen des Institutes für Anthropologie der Universität Zürich wurden vormittags mit Honigwasser angegemachte Getreideflocken (CHRISTEN, A., 1974) und nachmittags Obst sowie Sonnenblumenkerne und Nüsse verabreicht. Die Schimpansen der Behring Werke wurden mit 'ssniff P' (Versuchstier-Diäten GmbH, Soest) und Trauben gefüttert. Die Paviane und Makaken der Chirurgischen Klinik Innenstadt der Universität München erhielten 'Altromin-Pellets' (Altromin GmbH, Lage/Westf.) und verschiedenes Obst und Gemüse. Die Makaken des Zoologischen Gartens Basel bekamen überwiegend Früchte und Gemüse, ergänzt durch etwas Milch, Erdnüsse und 'Tupaiafutter Nr. 344' (Firma Kliba, Basel). Den Dscheladas des Zoologischen Gartens Zürich wurde eine Keimgetreide-Mischung aus Gerste und Hirse verabreicht und dem Brillenlangur Blätter, da diese Tiere auf diese Nahrung spezialisiert sind. Die beiden Gorillas und die zwei Bonobos der Wilhelma, Stuttgart, erhielten noch dreimal täglich Milumil-Säuglingsnahrung (Milupa GmbH, Friedrichsdorf/Ts.) und ein wenig Obst. Der Orang-Utan des Tierparks Hellabrunn wird normalerweise mit einem Milchbrei gefüttert, der mit einer Vitamin- und Eiweißmischung angereichert ist, sowie mit Tee und Obst. Er nahm jedoch vor der Blutentnahme schon einige Zeit kaum noch Futter auf.

Die Klassifizierung der Affen erfolgte nach der Einteilung von NAPIER und NAPIER (1967), die als Unterordnungsbegriffe Prosimii (Halbaffen) und Anthropoidea (Affen) verwenden. Im lexikalischen Gebrauch des deutschen Sprachraumes wird jedoch Anthropoidea mit Menschenaffen gleichgesetzt. Um Mißverständnisse zu vermeiden, wurden deshalb diese Begriffe durch Prosimiae und Simiae ersetzt, die ebenfalls zur Unterteilung der Primaten in Gebrauch sind (GRZIMEK, 1967; FIEDLER, 1956). Die jeweilige Tierzahl und die Herkunftsorte des Probenmaterials sind aus den Tabellen 1a, 1b und 1c zu entnehmen.

Von den Totenkopffäffchen des Max-Planck-Institutes für Psychiatrie wies eine Gruppe flache runde weiße Bögen über den Augen auf, während die zweite Gruppe etwas breitere Bögen hatte, die über den Augen eine Spitze zeigten. Diese Tiere hatten ein etwas gelberes Fell und einen schwarzen Kopf. Die beiden Gruppen sind entsprechend den weißen Augenbändern als gotischer und romanischer Typ bezeichnet.

Tabelle 1

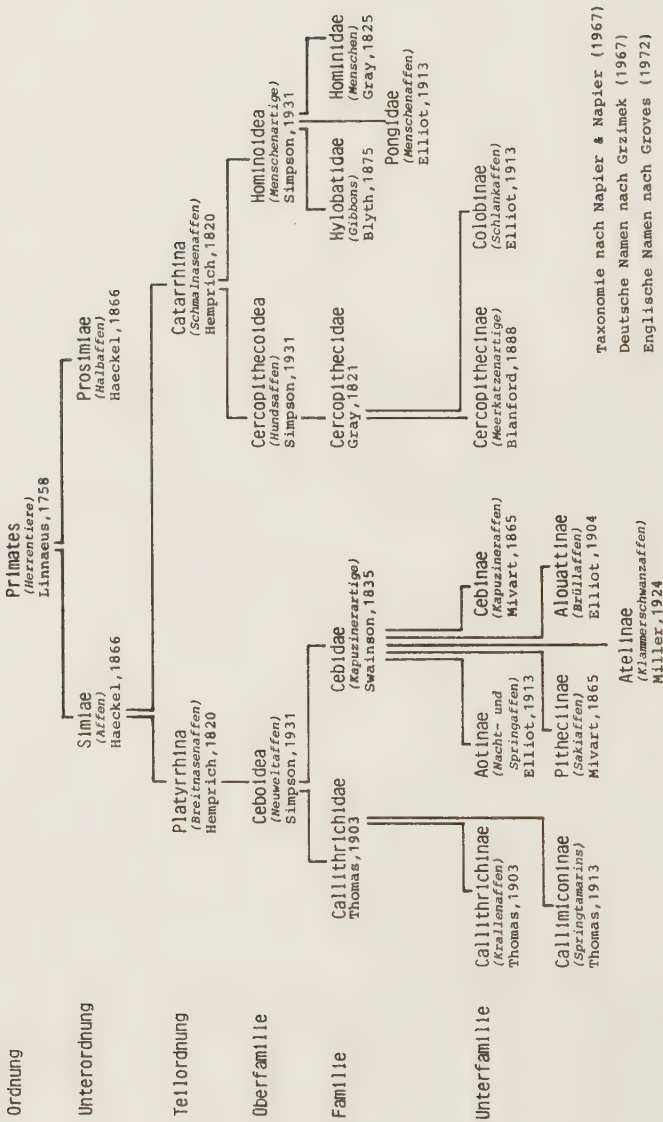


Tabelle 1a

NEUWELTAFFEN

	Anzahl	Herkunftsort (Anzahl)
Callithrichinae (Thomas, 1903)		
Callithrix (Erxleben, 1777)		
- Callithrix jacchus (Linnaeus, 1758) <i>common marmoset; Weißbüscheläffchen</i>	43	A
Saguinus (Hoffmannsegg, 1807)		
- Saguinus fuscicollis (Spix, 1823) <i>saddle-back tamarin; Braunrückentamarin</i>	13	A
- Saguinus mystax (Spix, 1823) <i>moustached tamarin; Schnurrbarttamarin</i>	6	A
- Saguinus labiatus (E. Geoffroy, 1812) <i>red-bellied tamarin; Rotbauchtamarin</i>	10	A
- Saguinus oedipus (Linnaeus, 1758) <i>cottontop; Lisztäffchen</i>	4	A
Aotinae (Elliot, 1913)		
Aotus (Illiger, 1811)		
- Aotus trivirgatus (Humboldt, 1812) <i>owl-monkey; Nachtaffe</i>	4	B
Cebinae (Mivart, 1865)		
Saimiri (Voigt, 1831)		
- Saimiri sciureus (Linnaeus, 1758) <i>squirrel monkey; Totenköpfchen</i>	11	B (1) C (10)

Tabelle 1b

ALTWELTAFFEN

	Anzahl	Herkunftsort (Anzahl)
Cercopithecinae (Blanford, 1888)		
Macaca (Lacépède, 1799)		
- Macaca fascicularis (Raffles, 1821)	5	D (1)
crab-eating macaque; Javaneraffe		E (2)
		F (2)
- Macaca mulatta (Zimmermann, 1780)	13	D (9)
rhesus monkey; Rhesusaffe		G (4)
Papio (Erxleben, 1777)		
- Papio anubis (Lesson, 1827)	3	F (2)
olive baboon; Grüner Pavian		G (1)
- Papio hamadryas (Linnaeus, 1758)	1	G
mantled baboon; Mantelpavian		
Theropithecus (I. Geoffroy, 1841)		
- Theropithecus gelada (Rüppell, 1835)	3	H
gelada; Dschelada		
Colobinae (Elliot, 1913)		
Presbytis (Eschscholtz, 1821)		
- Presbytis obscura (Reid, 1837)	1	H
spectacled langur; Brillenlangur		
Pongidae (Elliot, 1913)		
Pongo (Lacépède, 1799)		
- Pongo p. pygmaeus (Linnaeus, 1760)	1	I
orang-utan; Borneo-Orang-Utan		
Pan (Oken, 1816)		
- Pan troglodytes (Blumenbach, 1779)	10	K
chimpanzee; Schimpanse		
- Pan paniscus (Schwarz, 1929)	2	L
pygmy chimpanzee; Bonobo		
Gorilla (I. Geoffroy, 1852)		
- Gorilla g. gorilla (Savage and Wyman, 1847)	2	L
coast gorilla; Flachlandgorilla		

Tabelle 1c

	Anzahl	Herkunftsort (Anzahl)
Hominidae (Gray, 1825)		
Homo (Linnaeus, 1758)		
- Homo sapiens (Linnaeus, 1758)	16	A
<i>man; Mensch</i>		
insgesamt	148	

- A: Max v. Pettenkofer-Institut für Hygiene und
Medizinische Mikrobiologie der Universität München
- B: Anthropologisches Institut der Universität Zürich,
Schweiz
- C: Max-Planck-Institut für Psychiatrie, München
- D: Gesellschaft für Strahlen- und Umweltforschung,
Neuherberg bei München
- E: Zoologischer Garten Basel, Schweiz
- F: Institut für Chirurgische Forschung der Universität
München, Klinikum Großhadern
- G: Chirurgische Klinik Innenstadt der Universität
München, Tierlabor der Abteilung für Klinische
Chemie und Klinische Biochemie
- H: Zoologischer Garten Zürich, Schweiz
- I: Tierpark Hellabrunn, München
- K: Behring Werke, Marburg/Lahn
- L: Zoologisch-Botanischer-Garten, Wilhelma, Stuttgart

4.1.2. . PROBENGWINNUNG UND -AUFBEWAHRUNG

Die Blutproben von den Affen der Gesellschaft für Strahlen- und Umweltforschung wurden durch Punktion der vena cephalica antebra-chii gewonnen, die Humanproben durch Punktion einer Kubitalvene, alle anderen durch Punktion der vena femoralis. Die Krallen- und Totenkopffaffen wurden hierzu weder narkotisiert noch sediert. Alle übrigen Tiere waren mit Ketanest (Parke, Davis & Co.; Freiburg) immobilisiert.

Die Probenentnahme bei den Tieren erfolgte jeweils am Vormittag nach etwa 12- bis 14-stündigem Fasten.

Die Analysen von *Aotus trivirgatus*, *Macaca mulatta* und *Macaca fascicularis* sowie *Papio anubis*, *Papio hamadryas* und *Pongo p. pygmaeus* wurden mit Plasma durchgeführt, wobei Heparin als Gerinnungshemmer verwendet wurde. In allen übrigen Fällen wurde Serum analysiert.

Sämtliche Proben wurden sobald als möglich für 15 min bei 1250 g zentrifugiert, anschließend wurde der Überstand abgenommen und sofort bei -20° C in 1,5 ml Qualycups (Zinsser; Frankfurt/Main) eingefroren. Die Analysen erfolgten innerhalb eines Zeitraumes von zwei Tagen bis maximal zwei Monaten.

Die Harnprobe entstammt dem spontanen Harnabsatz eines vier Monate alten, handaufgezogenen Krallenaffen und wurde nach dem Auffangen sofort eingefroren.

4.1.3. ANALYTISCHE METHODE

4.1.3.1. CHROMATOGRAPHISCHE BEDINGUNGEN

Das Umkehrphasen-Hochdruck-Flüssigkeits-Chromatographie-System (HPLC) bestand aus einer Pumpe, Modell 6000 A, einem UV-Detektor mit variabler Wellenlänge, Modell 450, und einem Einspritzsystem, Modell U6-K (alle von Waters Associates; Königstein/Ts.). Das Einspritzsystem mußte zeitweise durch einen Injektor, Modell 7120, mit 20 µl Schleife (Rheodyne Inc.; Berkeley CA) ersetzt werden.

Die Säule wies eine Länge von 540 mm sowie einen Innendurchmesser von 4,6 mm auf und bestand aus drei Teilstücken, die durch totraumvolumen-arme Kopplungsstücke miteinander verbunden waren (1 x PC + 2 x NC, Hyperchrome, Bischoff Analysentechnik; Leonberg). Die Befüllung bestand aus dem Umkehrphasen-Material Spherisorb ODS II 5 µm (Phase Separation; England).

Das Elutionsmittel war eine wässrige Ammoniumdihydrogenphosphat-Lösung ($\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$) mit einer Konzentration von 0,001 mol/l und einem pH-Wert von 3,55. Die verwendete Pufferlösung wurde jeweils täglich frisch mit aqua bidest hergestellt, das durch eine Filtrieranlage (Millipore S.A.; Molsheim, Frankreich) bis auf einen Widerstand von 10 Mega-Ohm·cm gereinigt wurde. Nach dem Ansetzen wurde der Puffer durch einen Membranfilter, Type HA, mit einer Porengröße von 0,45 µm (Millipore Corp.; Bedford, Mass.) filtriert und anschließend für 3 min im Unterdruck entgast.

Als Flußrate wurden 0,8 ml/min gewählt. Dabei trat anfangs ein Druck von 145 bar auf, der im Laufe der Zeit später bis auf 190 bar anstieg.

Zur Bestimmung von Allantoin wurde der UV-Detektor auf eine Wellenlänge von 206 nm eingestellt, diese wurde etwa 15 min nach dem Einspritzen für Harnsäure, Hypoxanthin und Xanthin auf 262 nm geändert.

4.1.3.2. PROBENVORBEREITUNG

Jede Probe wurde kurz vor der Analyse im 20° C warmen Wasserbad aufgetaut, 200 µl davon mit 200 µl einer 0,6 n Perchlorsäure (HClO_4) versetzt und mit einem Rüttler kräftig geschüttelt, anschließend wurde für 15 min bei 9000 g zentrifugiert. Von dem Überstand wurden 250 µl abgenommen, 30 µl einer 1,5 m Kaliumcarbonatlösung (K_2CO_3) zugegeben und kräftig geschüttelt. Die Probe wurde 5 min in ein Eiswasserbad gestellt, anschließend kurz anzentrifugiert, danach der Überstand über dem gefällten Kaliumperchlorat abgenommen und sofort analysiert.

Die Harnprobe wurde nach dem Auftauen lediglich im Verhältnis 1 : 4 verdünnt und ebenfalls sofort analysiert.

Bei dem Umgang mit Affenblut sollte man die Regeln der Hygiene genauestens beachten, da eine Kontamination mit potentiell human-pathogenen Erregern nie ausgeschlossen werden kann.

4.1.3.3. AUSWERTUNGSVERFAHREN

Der UV-Detektor war mit einem Analog-Schreiber (Modell LB 922, Berthold; Wildbad) gekoppelt, der die Signale bei einem Papiervorschub von 1 cm/min aufzeichnete.

Die Auswertung der Peaks des Chromatogramms erfolgte von Hand, wobei die Höhe multipliziert mit der Breite des Peaks auf halber Höhe als Maß für die Fläche genommen wurde (SCHWEDT, 1979). Dabei wurde die Basislinie für jeden Peak neu angelegt. Die Konzentration wurde durch

Vergleich mit den Peakflächen von Standardlösungen ermittelt. Die Standards wurden mit Reinsubstanzen von Allantoin, Harnsäure, Hypoxanthin und Xanthin (alle von SERVA Feinbiochemika; Heidelberg) hergestellt. Sie wurden jeweils im Bereich von 180 bis 230 $\mu\text{mol/l}$ mit ultrafiltriertem aqua bidest (siehe 4.1.3.1.) angesetzt, portioniert in 1 bis 1,5 ml in Qualycups (siehe 4.1.2.) abgefüllt, bei -20°C eingefroren und bis maximal 7 Tage nach der Herstellung jeweils frisch aufgetaut verwendet.

Proben und Standards wurden mit einer Mikrospritze (# 701, Hamilton; Bonaduz, Schweiz) abgemessen und in den Injektor gegeben.

Die Identifikation der einzelnen Peaks erfolgte durch Zugabe von gelöstem Standard zur Probe.

Die Peaks der einzelnen Purinmetabolite wurden durch Änderungen der Wellenlängen für Standards und Proben auf ihre Homogenität untersucht.

4.1.4. PURINBELASTUNGSVERSUCH

10 Krallenaffen der Spezies *Callithrix jacchus* wurden während einer Dauer von 10 Tagen mit einer pelletierten Diät gefüttert, deren Puringehalt durch Beimischung von Einzellerprotein (SCP, Charge Me 253, Hoechst; Frankfurt/Main) erhöht wurde. Das SCP wurde im Austausch gegen das in der Diät Nr. 13 enthaltene Sojaproteinkonzentrat (Danpro-A, Aarhus Oliefabrik; Dänemark) zugesetzt. Diese Komponente hat im Vergleich zu den anderen Proteinträgern der Koloniediät die geringste Akzeptanz, die bei Krallenaffen eine große Rolle spielt (FLURER, persönliche Mitteilung 1983). Es wurde einmal die Hälfte und einmal die gesamte Menge an Danpro-A gegen SCP

Tabelle 2

Prozentuale Zusammensetzung der Diät Nr. 13 und der beiden Diäten mit purinreichem Einzellerprotein (SCP)

Nahrungskomponente	Gewichtsprozente		
	Diät Nr. 13	5 % SCP Diät	10 % SCP Diät
Maisschrot	20	20	20
Haferflocken	15	15	15
Weizenkleie	8	8	8
Saccharose	12	12	12
Glucose	3	3	3
Molkenprotein- konzentrat 'Globulal 70 N'	5	5	5
Sojaproteinkonzentrat 'Danpro A'	10	5	-
Einzellerprotein 'Me 253'	-	5	10
S-Casein	5	5	5
Sojaschrot	5	5	5
Fettkonzentrat 40 %	10	10	10
Sojaöl	3	3	3
Bananenaroma	1	1	1
Vitaminvormischung	0,5	0,5	0,5
Spurenelement- vormischung	0,1	0,1	0,1
CaCO ₃	0,8	0,8	0,8
CaHPO ₄ x 2 H ₂ O	0,8	0,8	0,8
NaCl	0,3	0,3	0,3
Cholinchlorid	0,2	0,2	0,2
DL-Methionin	0,1	0,1	0,1
Ca-Propionat 'Luprosil'	0,2	0,2	0,2
	100	100	100
Änderung im Protein- gehalt	-	+0,6%	+1,2%

Tabelle 3

Gehalt an Nucleinsäuren, Nucleosiden und freien Basen in verschiedenem Affenfutter

	RNA						DNA				Nucleoside				freie Basen						
	g/kg Ts.	Basen mmol/kg Ts.					g/kg Ts.	Basen mmol/kg Ts.				g/kg Ts.	mmol/kg Ts.				g/kg Ts.	mmol/kg Ts.			
		Cyt	Ura	Ino	Gua	Ade		Cyt	Thy	Gua	Ade		Urd	Ino	Guo	Ado		Ura	Har	Hyp	Xan
Diät Nr. 13	2,8	1	1	<1	3	1	1,8	1	2	1	2	0,4	<1	<1	<1	0,2	<1	1	<1	<1	
5 % SCP	12,8	7	6	<1	12	7	2,6	1	2	1	2	0,4	1	-	<1	<1	0,3	1	1	<1	
10 % SCP	16,2	8	8	<1	17	8	2,4	1	2	1	2	0,6	1	-	<1	<1	0,6	1	2	<1	
MPI	8,8	5	4	<1	9	4	2,8	1	2	1	2	0,4	<1	<1	<1	<1	0,1	<1	<1	-	

TS: Trockenmasse

MPI: Affenfutter des Max-Planck-Instituts für Psychiatrie

Ade: Adenin

Ado: Adenosin

Cyt: Cytosin

Gua: Guanin

Guo: Guanosin

Har: Harnsäure

Hyp: Hypoxanthin

Ino: Inosin

Thy: Thymin

Ura: Uracil

Urd: Uridin

	Purine mmol/kg	Pyrimidine mmol/kg
Diät Nr. 13	8,7	5,5
5 % SCP	25,0	16,9
10 % SCP	31,2	21,3
MPI	17,8	12,7

ausgetauscht. Dies bedingte eine Zunahme des Rohprotein-
gehaltes um 0,6 % bzw. 1,2 %, die für diesen Test-Ver-
such in Kauf genommen wurde.

Die Zusammensetzung der einzelnen Diäten ist der
Tabelle 2 zu entnehmen. Die Basisdiät sowie beide SCP-
Diäten wurden mit der Methode nach TIEMEYER et al.
(1981) auf ihren Gehalt an DNA, RNA, Nucleosiden und
freien Purinbasen untersucht (Tabelle 3).

Den Tieren wurden vor Beginn der Fütterung Blutproben
entnommen, anschließend wurden sie gewogen. Während der
Versuchsdauer erhielten vier Tiere die Diät mit 5 %
SCP-Gehalt und sechs Tiere die Diät mit 10 % SCP. Die
Tiere wurden paarweise in V2A-Gitterkäfigen gehalten,
der Verzehr konnte deshalb auch nur paarweise ermittelt
werden. Nach Ablauf der Versuchsperiode wurde den Tieren
wiederum vor dem Wiegen Blut entnommen.

4.1.5. STATISTISCHE METHODEN

Bei einigen Spezies wurde wegen der geringen Tierzahl
und wahrscheinlicher Inhomogenität auf statistische Be-
rechnungen verzichtet, es werden nur die ermittelten
Werte angegeben.

Die übrigen Ergebnisse werden als Mittelwerte mit ihrer
Standardabweichung angegeben.

Lineare Korrelationen zwischen den einzelnen Purinmeta-
boliten und ihre Signifikanzen wurden mit dem Computer
des Leibniz-Rechenzentrums der Bayerischen Akademie der
Wissenschaften, München, nach Standardmethoden ermittelt.

Soweit es von der Anzahl der Individuen her vertretbar
war, wurde auf den Ebenen der Ordnung, der Überfamilie

und der Spezies sowohl das Probenmaterial insgesamt geprüft als auch nach Geschlechtern getrennt.

Konzentrationsunterschiede der einzelnen Purinmetabolite zwischen unterschiedlichen Tierspezies und den Geschlechtern wurden mit dem U-Test nach WILCOXON, MANN und WHITNEY (SACHS, 1978) auf ihre Zufallswahrscheinlichkeit überprüft.

4.2. VERSUCHSERGEBNISSE

4.2.1. ANALYTISCHE METHODIK

4.2.1.1. SÄULE UND TRENNMATERIAL

Kritische Trennleistungen bei niedrigen Retentionszeiten können vor allem durch eine Erhöhung der Bödenzahl verbessert werden. Dieses Ziel läßt sich sowohl durch eine Verlängerung der Säule als auch durch entsprechende Materialwahl erreichen.

Wird die Säulenlänge durch Koppelung von einzelnen Teilen vergrößert, so ist auf ein möglichst kleines Totraumvolumen der Koppelungsstücke zu achten, um eine Grenzschichtvermischung zu vermeiden. Das gleiche gilt auch für die Verbindung vom Säulenende zum UV-Detektor, sie sollte so kurz wie möglich sein.

Trennmateriel mit rein sphärischen Partikeln läßt sich bei gleicher Korngröße dichter packen als unregelmäßiges Säulenmaterial, was die angestrebte Erhöhung der Bödenzahl möglich macht. Zum anderen bedingt es gleichmäßigere Kapillaren zwischen den Materialteilchen und eine gleich große Oberfläche aller Partikel. Dadurch wird die Trennschärfe verbessert, und die Peaks des Chromatogramms sind höher und schmaler.

Eine weitere Erhöhung der Bödenzahl ist durch die Verwendung von kleineren Partikeln möglich. Hierbei verringert sich jedoch auch die Weite der Kapillaren zwischen den Partikeln. Dies bedingt einen höheren Betriebsdruck, und außerdem verstopfen diese Kapillaren eher, wodurch der Druck noch weiter ansteigt. Blutproben müssen deshalb vor der Analyse unbedingt enteiweißt werden.

Das gewählte, rein sphärische Material mit 5 μm Durchmesser (Spherisorb ODS II, siehe 4.1.3.1.) ergab einen guten Kompromiß zwischen den einzelnen Anforderungen. Eine Eigenart dieses Materials ist es, daß die Retentionszeiten nach einigen Analysen relativ rasch ansteigen. Das heißt, die optimale Trennung wird erst nach etwa 12 bis 15 Analysen erreicht.

4.2.1.2. ABSORPTIONSSPEKTREN DER PURINMETABOLITE

Um die optimalen Wellenlängen für die Analytik zu bestimmen, wurden Absorptionsspektren der vier untersuchten Purinmetabolite bei den verwendeten Standardbedingungen erstellt. Die Substanzen wurden in dem üblichen Elutionsmittel gelöst (siehe 4.1.3.1.) und für Harnsäure, Xanthin und Hypoxanthin die Absorption im Wellenlängenbereich von 215 nm bis 300 nm mit einem Photometer (Modell 24 Beckmann Inc; Irvine, CA) gemessen (Abbildung 2). Da die Reproduzierbarkeit der Werte für Wellenlängen kleiner als 215 nm mit diesem Gerät unbefriedigend war, wurde das Absorptionsspektrum für Allantoin dadurch erstellt, daß Standardlösung durch den UV-Detektor des HPLC-Systems geschickt wurde und als Maß für die Absorptionsintensität die Höhe der sehr scharfen Peaks des Chromatogramms genommen wurde (Abbildung 3).

Ob das Abflachen der Absorptionskurve für Allantoin bei 192 nm ein echtes Maximum darstellt, ist fraglich, da

Abbildung 2

Absorptionsspektren von • Harnsäure, □ Hypoxanthin
und ★ Xanthin in 1 mM $(\text{NH}_4)_2\text{H}_2\text{PO}_4$ pH 3,55
Schichtdicke 1 cm; Konzentration je 100 $\mu\text{mol/l}$

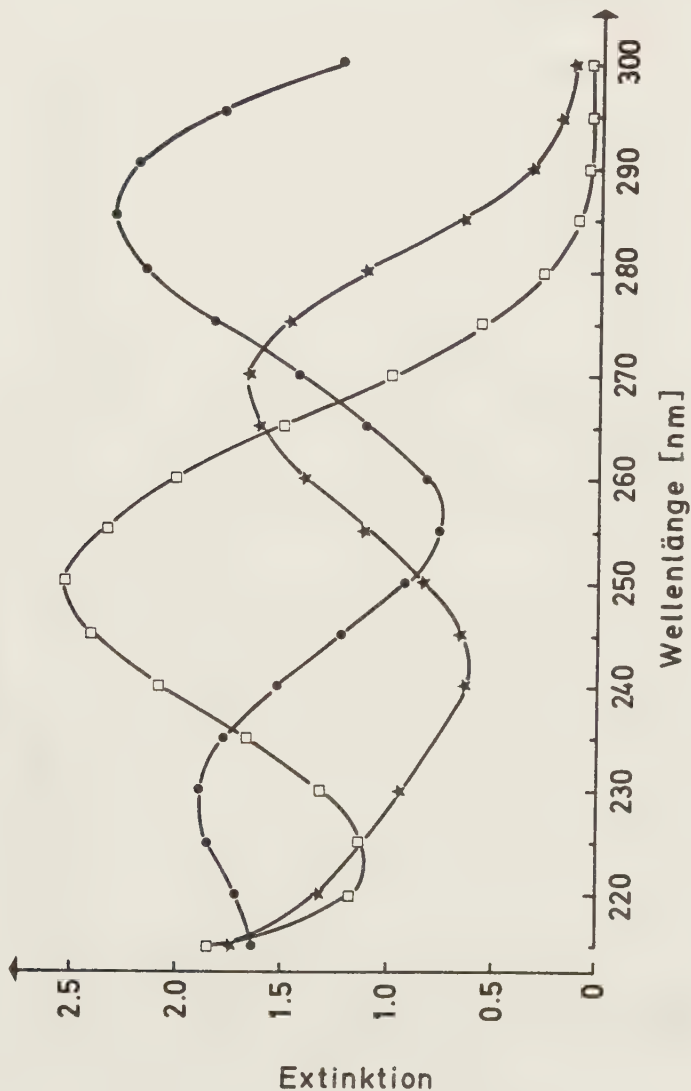
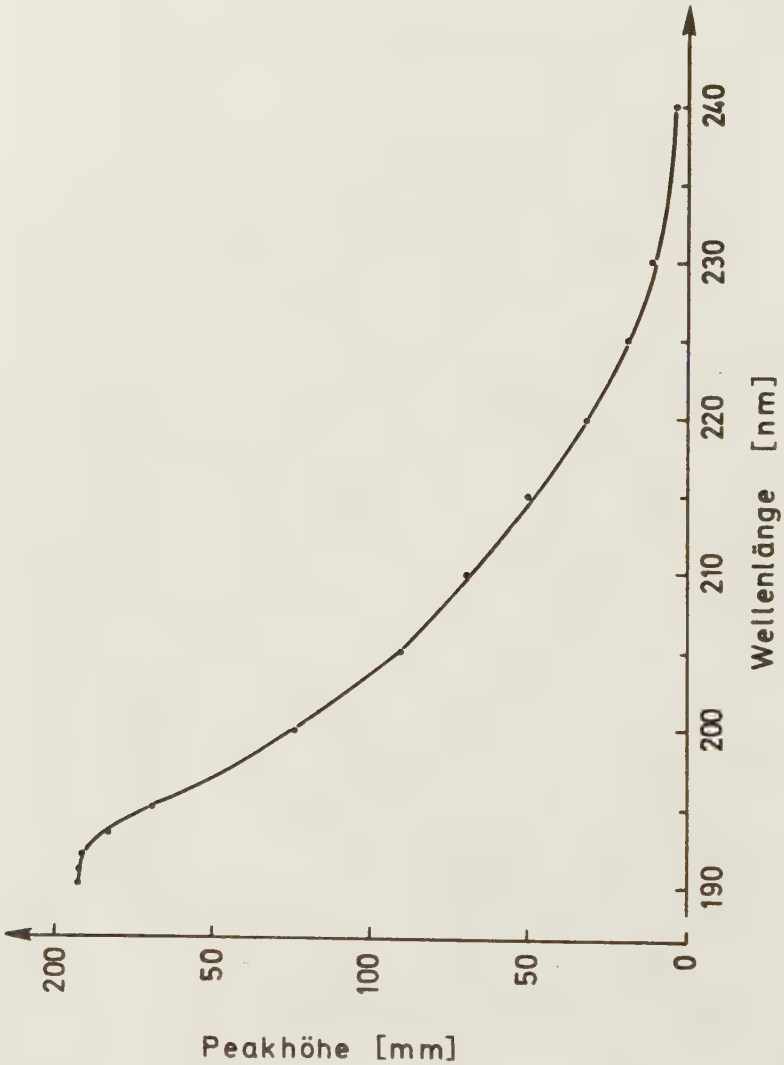


Abbildung 3

Absorptionsspektrum von Allantoin ($195 \mu\text{mol/l}$)
in $1 \text{ mM } (\text{NH}_4) \text{H}_2\text{PO}_4$ pH 3,55



dieser Wert am Rande des Meßbereiches des benutzten Gerätes liegt (vom Hersteller mit 190 nm angegeben), der sich auch mit der Grenze für Messungen in wässrigen Lösungen deckt.

Für die Analytik von Allantoin wurde eine Wellenlänge von 206 nm gewählt. Hierbei ist das Verhältnis der Höhe von Peak B zu der des Allantoinpeaks (Abbildung 4) am günstigsten. Bei kürzeren Wellenlängen steigt die Absorption der Substanz von Peak B wesentlich rascher an als die von Allantoin, so daß der Anfang des Peaks von Allantoin nicht mehr nahe genug an der Basislinie ist.

Harnsäure, Xanthin und Hypoxanthin weisen bei Wellenlängen unter 210 nm ebenfalls eine gute Absorptionsintensität auf. Ihre Peaks waren hier jedoch zum Teil von Peaks überlagert, deren Substanzen bei Wellenlängen über 220 nm offensichtlich nicht absorbieren. Da die Retentionszeiten der obigen Purinbasen nicht so stark differieren, als daß man zwischen den einzelnen Peaks die Wellenlänge wechseln könnte, wurde für alle drei eine gemeinsame Wellenlänge gewählt. Dabei war zu beachten, daß der Hypoxanthinpeak eine breitere und weniger hohe Form als die beiden anderen aufweist. Diese Form erschwert die Handauswertung und vergrößert bei sehr geringen Konzentrationen die Fehlerquote. Deshalb sollte bei der fraglichen Wellenlänge die Absorptionsintensität von Hypoxanthin etwas besser sein als diejenige von Harnsäure und Xanthin. Die gewählte Wellenlänge von 262 nm erfüllte diese Forderungen (Abbildung 2).

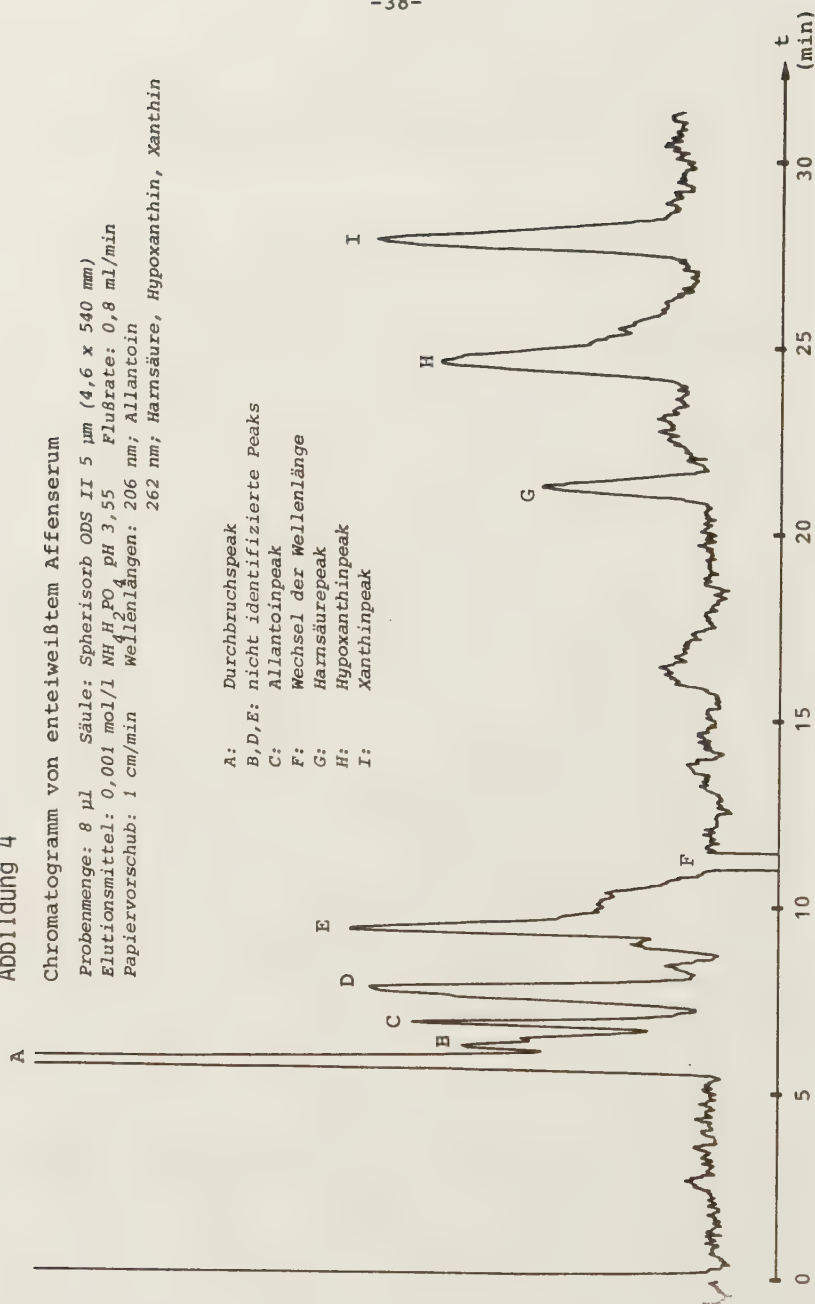
Das Umschalten der Wellenlänge von 206 nm auf 262 nm geschieht am besten etwa zwei bis drei Minuten nach dem Allantoinpeak, wenn der Schreiber wieder nahe der Basislinie ist, da diese neu eingestellt werden muß.

Abbildung 4

Chromatogramm von enteiweißtem Affenserum

Probenmenge: 8 μ l Säule: Spherisorb ODS II 5 μ m (4,6 x 540 mm)
 Elutionsmittel: 0,001 mol/l NH_4PO_4 pH 3,55 Flußrate: 0,8 ml/min
 Papiervorschub: 1 cm/min Wellenlängen: 206 nm; Allantoin
 262 nm; Harnsäure, Hypoxanthin, Xanthin

A: Durchbruchpeak
 B, D, E: nicht identifizierte Peaks
 C: Allantoinpeak
 F: Wechsel der Wellenlänge
 G: Harnsäurepeak
 H: Hypoxanthinpeak
 I: Xanthinpeak



Ein spezifischer Fehler durch das Verstellen der Wellenlänge konnte nicht beobachtet werden. Für den Fall, daß nicht ganz exakt 262 nm eingestellt worden sind, müßten sich nach dem Verlauf der Absorptionsspektren (Abbildung 2) bei gleichbleibender Konzentration der drei Stoffe die Peakflächen von Harnsäure und Xanthin gleichsinnig, die für Hypoxanthin entgegengesetzt ändern. Dies konnte bei $n = 11$ Untersuchungen in keinem Fall festgestellt werden. Das heißt, wenn sich durch die Umstellung der Wellenlänge tatsächlich ein Fehler ergeben sollte, so ist er so minimal, daß er gegenüber der Standard-Fehlerquote (Tabelle 4) nicht meßbar ist.

4.2.1.3. ELUTIONSMITTEL UND FLUSSRATE

Das Peakmuster der Chromatogramme unterschiedlicher Affenarten weicht zum Teil ganz erheblich voneinander ab, insbesondere im Bereich der Retentionszeit von Allantoin. Zum Teil traten dabei anfangs Überlagerungen an den Schultern des Allantoinpeaks auf. Deshalb wurden Molarität und pH-Wert des Puffers (siehe 4.1.3.1.) variiert. Dabei wurde festgestellt, daß sich die Retentionszeiten von Harnsäure, Hypoxanthin und Xanthin bei einer Erniedrigung des pH-Wertes erhöhen und bei Erniedrigung der Molarität verkürzen. Dagegen blieb die Retentionszeit von Allantoin bei sämtlichen Änderungen dieser beiden Werte gleich. Die Nachbarpeaks von Allantoin erwiesen sich bei diesen Änderungen als inhomogen, wobei die einzelnen Substanzen mit ihren Retentionszeiten unterschiedlich reagierten. Aus Zeit- und Kostengründen wurde darauf verzichtet, die unterschiedlichen Stoffe der Nachbarpeaks von Allantoin genau zu analysieren und zu identifizieren.

Je nach Affenspezies ergab sich eine sehr gute bis befriedigende Trennung der Peaks des Chromatogramms bei einer

Konzentration von 0,001 mol/l und einem pH-Wert von 3,55 (Abbildung 4).

Von dem Puffer sollte nie mehr angesetzt werden, als innerhalb von maximal 12 Stunden verbraucht wird. Durch das in der Luft enthaltene CO_2 steigt der pH-Wert sonst über 3,65, wodurch der Allantoinpeak nicht mehr frei von Störungen durch Nachbarpeaks ist.

Eine niedrige Flußrate verbessert zwar die Trennung, verlängert aber gleichzeitig die Analysenzeit. Als guter Kompromiß erwies sich ein Wert von 0,8 ml/min. Sollte der Allantoinpeak nicht ausreichend frei sein, so kann die Elutionsgeschwindigkeit bei dem verwendeten Säulenmaterial ohne weiteres bis auf 0,5 ml/min gesenkt werden. Erst bei 0,3 ml/min trat keine einwandfreie Trennung der einzelnen Fraktionen mehr auf.

4.2.1.4. GERINNUNGSHEMMER UND PROBENAUFBEWAHRUNG

Der größte Teil der Analysen wurde mit Serum durchgeführt (siehe 4.1.2.). Besser ist es jedoch, einen Gerinnungshemmer zu verwenden. Man kann so das Blut sofort nach der Entnahme zentrifugieren, das Plasma von den Zellen trennen und einfrieren. Dies verhindert mögliche Veränderungen durch die Blutzellen oder durch mikrobiellen Ab- oder Umbau während dieser Zeit. Außerdem sind so die Zellen noch für weitergehende oder andere Untersuchungen zu verwenden.

Ungeeignet als Gerinnungshemmer sind Oxalat und EDTA. Sie absorbieren bei 206 nm sehr stark und weisen eine ähnliche Retentionszeit wie Allantoin auf, so daß dessen Peak zum Teil gänzlich verdeckt wird. Citrat absorbiert nicht so stark und liegt mit seiner Retentionszeit so zwischen

Allantoin und Harnsäure, daß keines von beiden gestört wird. Die Verwendung in blutisotoner Lösung bedingt jedoch eine Verdünnung, die bei niedrigen Konzentrationen der untersuchten Stoffe im Blut unerwünscht ist.

Als Gerinnungshemmer der Wahl für die Analyse der untersuchten Purinmetabolite hat sich Heparin erwiesen, das im Chromatogramm überhaupt nicht stört.

Um einen Konzentrationsverlust der Purinmetabolite durch Lagerung des Untersuchungsmaterials zu vermeiden, wurden verschiedene Lagerungsbedingungen und -zeiträume überprüft. Dabei konnte kein Unterschied bezüglich der Lagerung von Plasma bei -20°C , -60°C und -90°C festgestellt werden. Im Gegensatz zu HORNAWSKY und MÜLLER (1980), die bei einer Lagerung von Serum bei -20°C für Allantoin einen Konzentrationsverlust ab dem 4. Tag mit ihrer colorimetrischen Methode festgestellt haben, wurde bei einem eigenen Versuch während der Dauer von 40 Tagen kein Konzentrationsverlust im Plasma beobachtet. 10 verschiedene Seren von *Callithrix jacchus*, die nach dreijähriger ununterbrochener Lagerung (bei -20°C) analysiert wurden, lagen mit den Werten der vier untersuchten Stoffe innerhalb des normalen Streubereiches dieser Spezies.

Es wurden jedoch zum Teil drastische Konzentrationsverluste festgestellt, wenn eine Probe ein- oder mehrmals aufgetaut und wieder eingefroren wurde. Will man einzelne Ergebnisse später nochmals wiederholen, so empfiehlt sich in jedem Fall eine Portionierung vor dem Einfrieren.

4.2.1.5. ENTEIWEISSUNG DER PROBEN

Anfangs wurde versucht, den Großteil an Proteinen durch Schütteln mit Chloroform und anschließendem Zentrifugieren aus dem Untersuchungsmaterial zu entfernen. Dabei wären

gleichzeitig die Lipide mitherausgenommen worden, was ein weniger häufiges Regenerieren der Säule ermöglicht hätte. Nach etwa 40 gut verlaufenen Analysen tauchte jedoch ein von Probe zu Probe rasch an Höhe und Breite zunehmender 'Schmutzpeak' auf, der alsbald das gesamte Chromatogramm verdeckte. Diese Störung war weder durch sorgfältiges Regenerieren der Säule in normaler Flußrichtung noch in Gegenrichtung zu beseitigen, trat jedoch nicht auf, wenn die Proben nicht mit Chloroform in Berührung gekommen waren. Warum dieser 'Schmutzpeak' auftritt und woraus er besteht, war nicht zu eruieren.

Benutzt man statt dessen Perchlorsäure zum Enteiweißen, so taucht obiges Problem nicht auf. Diese muß jedoch wieder ausgefällt werden. Tut man dies nicht, so erscheinen bei dem verwendeten Säulenmaterial mehrere Peaks mit unterschiedlichen Retentionszeiten in dem Chromatogramm. Einer davon deckt sich mit dem Allantoinpeak und würde sonst eine höhere Konzentration vortäuschen.

Das zur Ausfällung verwendete Kaliumcarbonat (K_2CO_3) darf jedoch nicht im Überschuß zugegeben werden, da sonst die Rückseiten der Peaks des Chromatogramms einen Shift zeigen.

4.2.1.6. STANDARDS

Bei industriell hergestellten und stabilisierten Standardlösungen der untersuchten Purinmetabolite wurden nach längerer Lagerung bzw. längerem Gebrauch Konzentrationsänderungen festgestellt. Auch Festsubstanzen sollten mit größtmöglicher Sorgfalt behandelt werden.

Bei Allantoin, Hypoxanthin und Harnsäure wurde ein relativ rasches Zerfallen der Standards in wässriger Lösung beobachtet, wenn diese nicht dunkel und kühl aufbewahrt

wurden. Dieser Konzentrationsverlust scheint auch von der Molarität der Lösung abzuhängen. Je niedriger die Konzentration der Lösung ist, umso eher ist ein Verlust zu beobachten.

Frisch angesetzte Standards sind am besten portioniert bei -20°C einzufrieren. Um absolut sicher zu gehen, daß auch unterhalb der Nachweisgrenze kein Konzentrationsverlust auftritt, sollten sie besser nicht zu lange Zeit verwendet werden.

Die Standardlösungen sollten nur unabhängig voneinander verwendet werden. Es wurden Konzentrationsverluste festgestellt, wenn sie mit der Mikrospritze nacheinander in die Schleife des Injektors gebracht und dann gemeinsam auf die Säule gegeben wurden.

Die Beobachtung von WEINMAN et al. (1981), die bei der Mikrospritze zum Abmessen von Proben und Standards eine Kontamination mit Harnsäure feststellten, konnte nicht bestätigt werden. Nach 15 bis 20maligem Spülen der Mikrospritze mit destilliertem und ultrafiltriertem Wasser (siehe 4.1.3.1.) war niemals ein Harnsäurepeak auf einem Testchromatogramm zu beobachten. Die von WEINMAN vorgeschlagene Reinigungsprozedur ist sehr umständlich und birgt durch die Verwendung von Uricase eher die Gefahr, daß Enzymreste in der Spritze bleiben oder auf die Säule gelangen. Nach eigenen Beobachtungen (Uricase-behandeltes Plasma) wird das Enzym auf der Säule adsorbiert und bleibt dort eine ganze Weile aktiv. Anschließende Proben sind dadurch nicht mehr auswertbar.

Statt des Spülens der Spritze durch Aufziehen von Wasser mit dem Kolben kann dieses auch sehr vorteilhaft dadurch geschehen, daß ca. $100\text{ }\mu\text{l}$ H_2O mittels einer Wasserstrahlpumpe durch die Spritze gesaugt werden. Der Stempel ist dabei gesondert zu reinigen.

4.2.1.7. ÜBERPRÜFUNG DER METHODISCHEN BEDINGUNGEN

Für alle vier verwendeten Substanzen (Allantoin, Harnsäure, Xanthin, Hypoxanthin) wurden bei den Standards Fehlerquoten zwischen 1,9 % und 2,2 % ermittelt (Tabelle 4).

Tabelle 4

Fehlerquote mit Standardlösungen

	Allantoin (190 $\mu\text{mol/l}$)	Harnsäure (183 $\mu\text{mol/l}$)	Hypoxanthin (224 $\mu\text{mol/l}$)	Xanthin (204 $\mu\text{mol/l}$)
Präzision *) der Methode	$\pm 1,98 \%$	$\pm 1,91 \%$	$\pm 1,62 \%$	$\pm 2,18 \%$
Anzahl der Bestimmungen	12	12	11	13

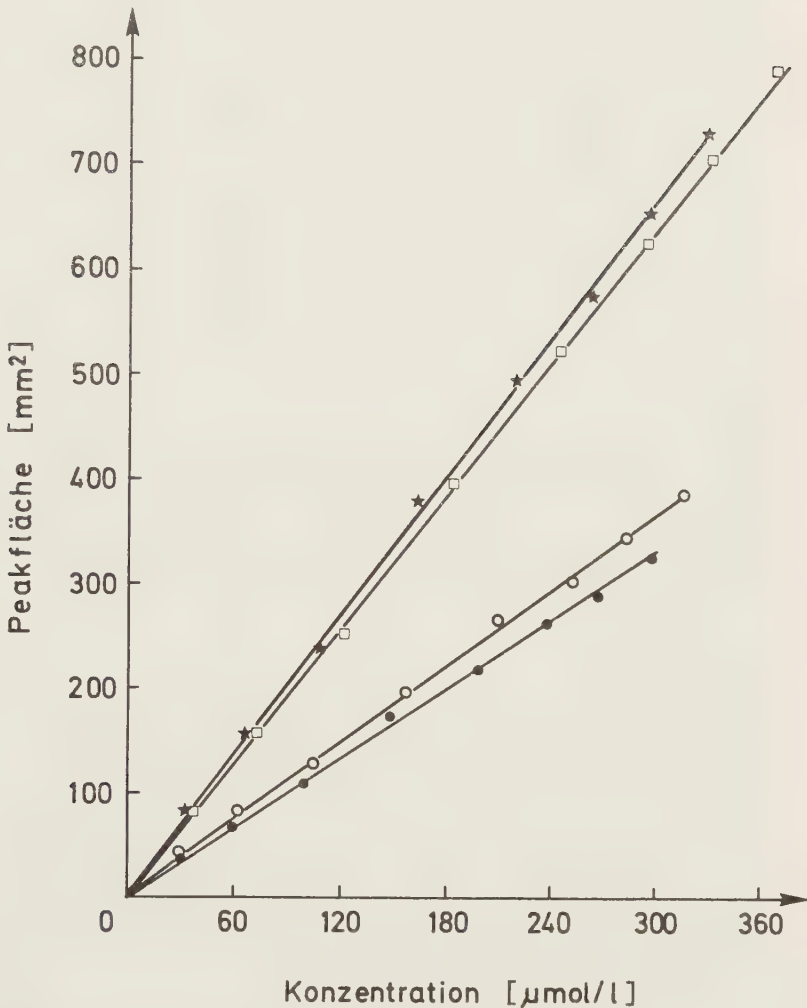
*) als Präzision ist der Variationskoeffizient der Einzelwerte angegeben

Die Beziehung zwischen der jeweiligen Peakfläche (siehe 4.1.3.3.) und der Konzentration des gelösten Purinmetaboliten war für alle vier Stoffe im Konzentrationsbereich von 30 bis 370 $\mu\text{mol/l}$ linear (Abbildung 5). Der Korrelationskoeffizient war immer größer als $r = 0,999$.

Die Wiederfindungsrate wurde mit frisch gewonnenem Plasma eines Rhesusaffen bestimmt. Zu jeweils 2 ml Plasma wurden einmal je 200 μl und einmal je 100 μl von jedem Standard im Konzentrationsbereich von 1900 $\mu\text{mol/l}$ zugesetzt. Die so erhaltenen Mischungen wurden portioniert und sofort eingefroren. Die Proben wurden einzeln aufgetaut, der üblichen Vorbereitung unterzogen (siehe 4.1.3.2.) und analysiert (Tabelle 5).

Die dabei erhaltenen Werte von über 100 % erklären sich aus der Volumenkontraktion der wässrigen Phase durch das Enteiweißen, wodurch die Konzentration gelöster Stoffe erhöht wird, soweit sie nicht mit ausfallen. LINDPAINTNER (1956) geht auf diesen Bestimmungsfehler genauer ein und

Abbildung 5



Beziehung zwischen Peakfläche und Konzentration der untersuchten Purinmetabolite

Jeder Punkt entspricht einem Mittelwert aus $n = 3$
Korrelationen für $n = 9$ (inclusive 1 Wert für 0)

○ Allantoin ($r = 0,9995$)
□ Hypoxanthin ($r = 0,9998$)

● Harnsäure ($r = 0,9991$)
★ Xanthin ($r = 0,9995$)

Tabelle 5

Wiederfindungsrate im Plasma eines Rhesusaffen
(Macaca mulatta)

	zugesezte Menge in nmol	Endkonzentration in $\mu\text{mol/l}$	n	Wiederfindungsrate in %	Präzision in %
Allantoin	390	139	6	108,57	$\pm 2,56$
	195	81	7	104,12	$\pm 3,18$
Harnsäure	360	129	6	105,64	$\pm 4,03$
	180	75	7	107,18	$\pm 2,91$
Hypo- xanthin	442	158	6	107,13	$\pm 4,22$
	221	92	7	107,95	$\pm 4,94$
Xanthin	384	137	6	110,32	$\pm 4,64$
	192	80	7	109,92	$\pm 3,14$

bietet entsprechende Korrekturformeln an. Da jedoch bei der makroskopischen Betrachtung der gefällten Eiweißmenge zum Teil erhebliche individuelle Unterschiede auch innerhalb einer Spezies festgestellt wurden, wurde auf eine Korrektur verzichtet, bei der nur Mittelwerte der jeweiligen Spezies hätten herangezogen werden können. Die gemessenen Konzentrationen beziehen sich also jeweils auf enteiweißtes Serum bzw. Plasma.

4.2.2. ANALYTISCHE ERGEBNISSE

4.2.2.1. CEBOIDEA

Bei den Neuweltaffen wurden von sieben Spezies insgesamt 91 Blutproben und eine Harnprobe analysiert. Die Ergebnisse der Blutproben sind in den folgenden Tabellen 6 bis 15 nach den einzelnen Arten geordnet. Die Analyse der Harnprobe des juvenilen Weißbüscheläffchens zeigt Tabelle 16. Der Vollständigkeit halber sind die Werte von vier kranken Krallenaffen zum Schluß der Neuweltaffen in Tabelle 17 aufgeführt.

Tabelle 6

Callithrix jacchus (Max v. Pettenkofer-Institut)
Körpergewicht und Serumkonzentrationen von
Purinmetaboliten

Geschlecht Anzahl	Körper- gewicht (g)	Purinmetabolite ($\mu\text{mol/l}$)			
		Allantoin	Harnsäure	Xanthin	Hypo- xanthin
σ^+ + σ^- n = 31	340 $\pm$ 54	70 $\pm$ 23	28 $\pm$ 16	38 $\pm$ 13	106 $\pm$ 43
σ^+ n = 16	338 $\pm$ 63	60 $\pm$ 15	32 $\pm$ 15	41 $\pm$ 15	100 $\pm$ 43
σ^- n = 15	341 $\pm$ 42	80 $\pm$ 25	24 $\pm$ 15	35 $\pm$ 10	112 $\pm$ 45

Über das gesamte Tiermaterial der Spezies *Callithrix jacchus* (Tabelle 6) ergeben sich keine signifikanten Korrelationen der einzelnen Purinmetabolite untereinander und mit dem Körpergewicht. Bei den Männchen allein ergibt sich für Harnsäure ($\bar{x}$ = 32 $\mu\text{mol/l}$) und Hypoxanthin ($\bar{x}$ = 100 $\mu\text{mol/l}$) eine signifikante Korrelation (r = +0,67; p = 0,002). Bei den Weibchen allein ist Allantoin ($\bar{x}$ = 80 $\mu\text{mol/l}$) mit Hypoxanthin ($\bar{x}$ = 112 $\mu\text{mol/l}$)

negativ korreliert ($r = -0,59$; $p = 0,011$). Die Geschlechtsunterschiede sind nur bei den Konzentrationen von Allantoin ($\sigma \bar{x} = 60 \mu\text{mol/l}$; $\varphi \bar{x} = 80 \mu\text{mol/l}$) und Harnsäure ($\sigma \bar{x} = 32 \mu\text{mol/l}$; $\varphi \bar{x} = 24 \mu\text{mol/l}$) signifikant ($p < 0,05$ bzw. $p < 0,20$).

Tabelle 7

Saguinus fuscicollis (Max v. Pettenkofer-Institut)
Körpergewicht und Serumkonzentrationen von
Purinmetaboliten

Geschlecht Anzahl	Körper- gewicht (g)	Purinmetabolite ($\mu\text{mol/l}$)			
		Allantoin	Harnsäure	Xanthin	Hypo- xanthin
$\sigma + \varphi$ $n = 13$	429 ± 44	77 ± 27	68 ± 31	31 ± 7	138 ± 50
σ $n = 6$	404 ± 48	89 ± 24	76 ± 30	32 ± 6	148 ± 57
φ $n = 7$	451 ± 26	66 ± 26	60 ± 32	30 ± 9	130 ± 45

Ohne Differenzierung der Geschlechter ist bei der Spezies Saguinus fuscicollis (Tabelle 7) das Körpergewicht ($\bar{x} = 429 \text{ g}$) mit der Hypoxanthinkonzentration ($\bar{x} = 138 \mu\text{mol/l}$) negativ korreliert ($r = -0,49$; $p = 0,043$). Harnsäure ($\bar{x} = 68 \mu\text{mol/l}$) ist mit Hypoxanthin ($\bar{x} = 138 \mu\text{mol/l}$) und Xanthin ($\bar{x} = 31 \mu\text{mol/l}$) korreliert ($r = +0,71$; $p = 0,004$ bzw. $r = +0,85$; $p = 0,001$). Hypoxanthin ($\bar{x} = 138 \mu\text{mol/l}$) ist ebenfalls mit Xanthin ($\bar{x} = 31 \mu\text{mol/l}$) korreliert ($r = +0,62$; $p = 0,012$). Die Unterschiede zwischen den Geschlechtern sind nur für Allantoin ($\sigma \bar{x} = 89 \mu\text{mol/l}$; $\varphi \bar{x} = 66 \mu\text{mol/l}$) signifikant ($p < 0,20$).

Tabelle 8

Saguinus labiatus (Max v. Pettenkofer-Institut)
Körpergewicht und Serumkonzentrationen von
Purinmetaboliten

Geschlecht: Anzahl	Körper- gewicht (g)	Purinmetabolite ($\mu\text{mol/l}$)			
		Allantoin	Harnsäure	Xanthin	Hypo- xanthin
♂ + ♀ n = 10	592 ± 49	63 ± 25	17 ± 14	32 ± 6	101 ± 23
♂ n = 5	574 ± 47	54 ± 21	12 ± 10	32 ± 7	95 ± 22
♀ n = 5	609 ± 48	71 ± 29	22 ± 16	31 ± 5	108 ± 23

Ohne Differenzierung der Geschlechter ist bei der Spezies *Saguinus labiatus* (Tabelle 8) das Körpergewicht ($\bar{x}$ = 592 g) mit der Hypoxanthinkonzentration ($\bar{x}$ = 101 $\mu\text{mol/l}$) negativ korreliert (r = -0,75; p = 0,006). Allantoin ($\bar{x}$ = 63 $\mu\text{mol/l}$) ist mit Harnsäure ($\bar{x}$ = 17 $\mu\text{mol/l}$) korreliert (r = +0,55; p = 0,049).

Tabelle 9

Saguinus mystax (Max v. Pettenkofer-Institut)
Körpergewicht und Serumkonzentrationen von
Purinmetaboliten

Geschlecht	Körper- gewicht (g)	Purinmetabolite ($\mu\text{mol/l}$)			
		Allantoin	Harnsäure	Xanthin	Hypo- xanthin
♂	931	48	57	31	117
♂	693	73	11	33	64
♂	648	80	0	8	172
♂	558	121	5	27	109
♀	730	187	11	28	126

Tabelle 10

Saguinus oedipus (Max v. Pettenkofer-Institut)

Körpergewicht und Serumkonzentrationen von
Purinmetaboliten

Geschlecht	Körper- gewicht (g)	Purinmetabolite ($\mu\text{mol/l}$)			
		Allantoin	Harnsäure	Xanthin	Hypo- xanthin
♀	374	67	36	33	61
♀	365	82	58	29	32
♂	382	105	21	14	50

Vergleicht man bei den untersuchten Krallenaffenarten die ermittelten Purinmetabolitkonzentrationen der einzelnen Spezies (Tabellen 6 bis 10) miteinander, so ergibt sich eine ganze Reihe von signifikanten Unterschieden sowohl bei Betrachtung beider Geschlechter gemeinsam als auch bei einer geschlechtsspezifischen Differenzierung. Die Ergebnisse sind in der Tabelle 11 dargestellt.

Tabelle 11

Unterschiede in der Konzentration einzelner Purin-metabolite im Serum verschiedener Krallenaffenarten mit Angabe der Tierzahl, des Geschlechts, des Konzentrationsbereiches der Purinmetabolite und der Signifikanz des Unterschiedes

Purin-metabolit	Spezies I	Spezies II	p <
Harnsäure	<i>Callithrix jacchus</i> ♂ + ♀ n = 31 (0 bis 70 µmol/l)	<i>Saguinus fuscicollis</i> ♂ + ♀ n = 13 (31 bis 113 µmol/l)	0,002
		<i>Saguinus labiatus</i> ♂ + ♀ n = 10 (0 bis 42 µmol/l)	0,10
		<i>Saguinus mystax</i> ♂ + ♀ n = 5 (0 bis 57 µmol/l)	0,10
	<i>Callithrix jacchus</i> ♂ n = 16 (11 bis 70 µmol/l)	<i>Saguinus labiatus</i> ♂ n = 5 (0 bis 25 µmol/l)	0,01
	<i>Saguinus fuscicollis</i> ♂ + ♀ n = 13 (31 bis 113 µmol/l)	<i>Saguinus labiatus</i> ♂ + ♀ n = 10 (0 bis 42 µmol/l)	0,002
		<i>Saguinus mystax</i> ♂ + ♀ n = 5 (0 bis 57 µmol/l)	0,01
	<i>Saguinus labiatus</i> ♂ + ♀ n = 10 (0 bis 42 µmol/l)	<i>Saguinus oedipus</i> ♂ + ♀ n = 3 (21 bis 58 µmol/l)	0,20
Allantoin	<i>Callithrix jacchus</i> ♂ n = 16 (37 bis 90 µmol/l)	<i>Saguinus fuscicollis</i> ♂ n = 6 (54 bis 123 µmol/l)	0,02
	<i>Saguinus labiatus</i> ♂ + ♀ n = 10 (31 bis 120 µmol/l)	<i>Saguinus mystax</i> ♂ + ♀ n = 5 (48 bis 187 µmol/l)	0,10
Xanthin	<i>Callithrix jacchus</i> ♂ + ♀ n = 31 (16 bis 76 µmol/l)	<i>Saguinus mystax</i> ♂ + ♀ n = 5 (8 bis 33 µmol/l)	0,10
		<i>Saguinus oedipus</i> ♂ + ♀ n = 3 (14 bis 33 µmol/l)	0,20

Tabelle 12

Saimiri sciureus, romanischer Typ (Max-Planck-Institut für Psychiatrie)

Serumkonzentrationen von Purinmetaboliten

Geschlecht	Purinmetabolite (µmol/l)			
	Allantoin	Harnsäure	Xanthin	Hypo-xanthin
♀	245	23	49	156
♀	256	40	52	113
♀	259	34	48	93
♀	321	29	53	122
♂	516	33	83	106

Tabelle 13

Saimiri sciureus, gotischer Typ (Max-Planck-Institut für Psychiatrie)

Serumkonzentrationen von Purinmetaboliten

Geschlecht	Purinmetabolite (µmol/l)			
	Allantoin	Harnsäure	Xanthin	Hypo-xanthin
♀	297	18	44	55
♀	321	36	68	159
♀	338	13	70	131
♀	393	39	51	95
♀	402	31	32	103

Tabelle 14

Saimiri sciureus, gotischer Typ (Anthropologisches Institut der Universität Zürich)

Serumkonzentrationen von Purinmetaboliten

Geschlecht	Purinmetabolite ($\mu\text{mol/l}$)			
	Allantoin	Harnsäure	Xanthin	Hypo-xanthin
♂ +	35	Spuren	Spuren	71

Differenziert man bei den Totenkopffäffchen zwischen dem gotischen und dem romanischen Typ und zieht bei einem Vergleich nur die weiblichen Tiere des Max-Planck-Institutes heran (Tabellen 12 und 13), so ist ein signifikanter Unterschied ($p < 0,10$) in der Konzentration des Allantoins im Serum gegeben.

Tabelle 15

Aotus trivirgatus (Anthropologisches Institut der Universität Zürich)

Serumkonzentrationen von Purinmetaboliten

Geschlecht	Purinmetabolite ($\mu\text{mol/l}$)			
	Allantoin	Harnsäure	Xanthin	Hypo-xanthin
♀ +	18	0	0	31
♀ +	33	13	0	192
♂	38	11	9	39
♂	146	36	21	49

Betrachtet man die Analysenergebnisse aller Neuweltaffen gemeinsam (Tabellen 6 bis 10 und 12 bis 14) und ohne Geschlechtsdifferenzierung, so ergibt sich zwischen Allantoin (18 bis 516 $\mu\text{mol/l}$) und Xanthin (0 bis 76 $\mu\text{mol/l}$) eine Korrelation ($r = +0,50$; $p \leq 0,001$). Ebenso korrelieren ($r = +0,37$; $p \leq 0,001$) Harnsäure (0 bis 113 $\mu\text{mol/l}$) und Hypoxanthin (31 bis 207 $\mu\text{mol/l}$).

Unterscheidet man nach Geschlechtern, so korrelieren ($r = +0,42$; $p \leq 0,003$) bei den männlichen Tieren Allantoin (31 bis 516 $\mu\text{mol/l}$) und Xanthin (8 bis 76 $\mu\text{mol/l}$). Für Harnsäure (0 bis 113 $\mu\text{mol/l}$) und Hypoxanthin (33 bis 207 $\mu\text{mol/l}$) errechnet sich ebenfalls eine Korrelation ($r = +0,55$; $p \leq 0,001$). Bei den weiblichen Tieren korreliert ($r = +0,58$; $p \leq 0,001$) lediglich Allantoin (18 bis 402 $\mu\text{mol/l}$) mit Xanthin (0 bis 70 $\mu\text{mol/l}$).

Tabelle 16

Callithrix jacchus (Max v. Pettenkofer-Institut)
Harnkonzentrationen von Purinmetaboliten

Geschlecht	Purinmetabolite ($\mu\text{mol/l}$)			
	Allantoin	Harnsäure	Xanthin	Hypo- xanthin
♂	1148	134	110	148

Tabelle 17

Kranke Krallenaffen (Max v. Pettenkofer-Institut)
Serumkonzentrationen von Purinmetaboliten

Individuum	Purinmetabolite ($\mu\text{mol/l}$)			
	Allantoin	Harnsäure	Xanthin	Hypo-xanthin
1	151	405	Spuren	29
2	91	282	153	263
3	113	282	79	407
4	1748	145	48	39

- 1: *Callithrix jacchus* ♂: Bronchopneumonie; feintropfige Leberzellverfettung mit einzelnen Nekrosen
- 2: *Callithrix jacchus* ♀: Pneumonie; Nieren streifig mit einzelnen Hämorrhagien
- 3: *Saguinus mystax* ♀: Kreislaufkollaps; Leber marmoriert; Kratzerlarve im Darm
- 4: *Saguinus oedipus* ♀: Kachexie; urämischer Geruch; Gingivitis

4.2.2.2. CERCOPITHECOIDEA

Bei den Hundsaffen wurden insgesamt 26 Blutproben von sechs verschiedenen Spezies analysiert. Die Ergebnisse sind in den folgenden Tabellen 18 bis 23 nach den einzelnen Spezies geordnet.

Tabelle 18

Macaca mulatta (Gesellschaft für Strahlen- und Umweltforschung, n = 9; Chirurgische Universitäts-Klinik Innenstadt der Universität München, n = 4)

Serumkonzentrationen von Purinmetaboliten

Geschlecht Anzahl	Purinmetabolite ($\mu\text{mol/l}$)			
	Allantoin	Harnsäure	Xanthin	Hypo- xanthin
♂ + ♀ n = 13	67 $\pm$ 22	1 $\pm$ 2	19 $\pm$ 6	37 $\pm$ 44
♂ n = 9	64 $\pm$ 22	1 $\pm$ 3	17 $\pm$ 6	48 $\pm$ 49
♀ n = 4	74 $\pm$ 24	0	23 $\pm$ 5	12 $\pm$ 11

Die Xanthinkonzentrationen von männlichen ($\bar{x} = 17 \mu\text{mol/l}$) und weiblichen ($\bar{x} = 23 \mu\text{mol/l}$) Rhesusaffen (Tabelle 18) unterscheiden sich signifikant ($p < 0,20$).

Tabelle 19

Macaca fascicularis

Serumkonzentrationen von Purinmetaboliten

Geschlecht Herkunft	Purinmetabolite ($\mu\text{mol/l}$)			
	Allantoin	Harnsäure	Xanthin	Hypo- xanthin
♂ ; II	42	5	7	0
♀ ; I	44	10	11	44
♂ ; I	48	0	17	78
♀ ; III	64	0	13	Spuren
♀ ; III	68	0	15	Spuren

I: Zoologischer Garten Basel

II: Gesellschaft für Strahlen- und Umweltforschung

III: Institut für Chirurgische Forschung der
Universität München

Tabelle 20

Papio anubis

Serumkonzentrationen von Purinmetaboliten

Geschlecht Herkunft	Purinmetabolite ($\mu\text{mol/l}$)			
	Allantoin	Harnsäure	Xanthin	Hypo- xanthin
♂ ; III	59	Spuren	32	27
♂ ; IV	63	Spuren	8	15
♂ ; III	68	13	14	Spuren

III: Institut für Chirurgische Forschung der
Universität München

IV: Chirurgische Universitäts-Klinik Innenstadt
der Universität München

Tabelle 21

Papio hamadryas (Chirurgische Universitäts-Klinik
Innenstadt der Universität München)

Serumkonzentrationen von Purinmetaboliten

Geschlecht	Purinmetabolite ($\mu\text{mol/l}$)			
	Allantoin	Harnsäure	Xanthin	Hypo- xanthin
♂	33	0	0	49

Tabelle 22

Theropithecus gelada (Zoologischer Garten, Zürich)

Serumkonzentrationen von Purinmetaboliten

Geschlecht	Purinmetabolite ($\mu\text{mol/l}$)			
	Allantoin	Harnsäure	Xanthin	Hypo- xanthin
♀	51	0	0	0
♀	63	0	0	19
♂	89	0	0	9

Tabelle 23

Presbytis obscurus (Zoologischer Garten, Zürich)

Serumkonzentrationen von Purinmetaboliten

Geschlecht	Purinmetabolite ($\mu\text{mol/l}$)			
	Allantoin	Harnsäure	Xanthin	Hypo- xanthin
♂	40	0	0	8

Bei gemeinsamer Prüfung der Daten aller Hundsaffen (Tabellen 18 bis 23) ergab sich eine Korrelation ($r = +0,48$; $p = 0,012$) der Konzentrationen von Allantoin (33 bis $107 \mu\text{mol/l}$) und Xanthin (0 bis $32 \mu\text{mol/l}$).

Die Unterschiede der Xanthinkonzentrationen im Serum von *Macaca mulatta* (8 bis $29 \mu\text{mol/l}$) und *Macaca fascicularis* (7 bis $17 \mu\text{mol/l}$) sind signifikant ($p < 0,10$).

4.2.2.3. HOMINOIDEA

Bei Mensch und Menschenaffen wurden insgesamt 31 Blutproben von fünf verschiedenen Spezies analysiert. Die Ergebnisse sind in den folgenden Tabellen 24 bis 28 nach den einzelnen Spezies geordnet.

Tabelle 24

Pongo p. pygmaeus (Tierpark Hellabrunn, München)
Serumkonzentrationen von Purinmetaboliten

Geschlecht	Purinmetabolite ($\mu\text{mol/l}$)			
	Allantoin	Harnsäure	Xanthin	Hypo-xanthin
♂ +	0	207	Spuren	6

Befund: Leukozytose; chronische Genitalinfektion;
Anorexie

Tabelle 25

Gorilla g. gorilla (Wilhelma, Stuttgart)
Serumkonzentrationen von Purinmetaboliten

Geschlecht	Purinmetabolite ($\mu\text{mol/l}$)			
	Allantoin	Harnsäure	Xanthin	Hypo-xanthin
♂	0	87	13	52
♀	0	87	18	47

Tabelle 26

Pan paniscus (Wilhelma, Stuttgart)
Serumkonzentrationen von Purinmetaboliten

Geschlecht	Purinmetabolite ($\mu\text{mol/l}$)			
	Allantoin	Harnsäure	Xanthin	Hypo-xanthin
♂	0	144	13	98
♀	0	153	19	175

Tabelle 27

Pan troglodytes (Behring-Werke, Marburg)
Serumkonzentrationen von Purinmetaboliten

Geschlecht Anzahl	Purinmetabolite (µmol/l)			
	Allantoin	Harnsäure	Xanthin	Hypo- xanthin
♂	0	76	4	57
♂	7	83	9	3
♀	11	85	14	27
♀	0	105	4	21
♂	0	107	5	6
♂	10	109	0	18
♂	0	125	Spuren	33
♂	0	134	4	23
♂	0	159	7	19
♀	0	169	8	217
Mittelwerte				
♂ + ♀ n = 10	3 ± 5	115 ± 32	6 ± 4	43 ± 63
♂ n = 7	2 ± 4	113 ± 29	4 ± 3	23 ± 18
♀ n = 3	4 ± 6	120 ± 44	9 ± 5	88 ± 112

Signifikante Geschlechtsunterschiede oder Korrelationen der einzelnen Purinmetabolite untereinander sind bei den Schimpansen (Tabelle 27) nicht feststellbar.

Tabelle 28

Homo sapiens

Serumkonzentrationen von Purinmetaboliten

Geschlecht Anzahl	Purinmetabolite ($\mu\text{mol/l}$)			
	Allantoin	Harnsäure	Xanthin	Hypo- xanthin
♂ + ♀ n = 16	3 ± 5	329 ± 83	9 ± 6	26 ± 47
♂ n = 8	2 ± 6	373 ± 81	7 ± 6	27 ± 63
♀ n = 8	3 ± 5	284 ± 60	10 ± 7	26 ± 25

Bei Homo sapiens (Tabelle 28) unterscheiden sich die Konzentrationen von Harnsäure im männlichen ($\bar{x}$ = 373 $\mu\text{mol/l}$) und weiblichen ($\bar{x}$ = 284 $\mu\text{mol/l}$) Serum signifikant ($p < 0,05$).

Vergleicht man die Ergebnisse der einzelnen Spezies der Hominoidea (Tabellen 24 bis 28) miteinander, so ergibt sich ein signifikanter ($p < 0,002$) Unterschied in der Harnsäurekonzentration im Serum zwischen Homo sapiens ($\bar{x}$ = 329 $\mu\text{mol/l}$) und Pan troglodytes ($\bar{x}$ = 115 $\mu\text{mol/l}$).

4.2.2.4. KORRELATIONEN IM GESAMTEN UNTERSUCHUNGS-MATERIAL

Bei einer Prüfung aller Einzelergebnisse auf Korrelationen der Purinmetabolitkonzentrationen untereinander ergaben sich Beziehungen zwischen allen Metaboliten, die in der folgenden Tabelle 29 dargestellt sind.

Tabelle 29

Korrelationen der Purinmetabolitkonzentrationen für alle untersuchten Blutproben (n = 143)

<i>Purinmetabolite</i>	<i>Linearer Korrelationskoeffizient (r)</i>	<i>Signifikanz</i>
<i>Allantoin / Harnsäure</i>	- 0,3551	0,00001
<i>Allantoin / Xanthin</i>	+ 0,6407	0,00001
<i>Allantoin / Hypoxanthin</i>	+ 0,2866	0,00033
<i>Harnsäure / Xanthin</i>	- 0,3486	0,00001
<i>Harnsäure / Hypoxanthin</i>	- 0,2783	0,00047
<i>Xanthin / Hypoxanthin</i>	+ 0,5124	0,00001

4.2.2.5. PURINBELASTUNGSVERSUCH

Die ermittelten Konzentrationen der Purinmetabolite sowie der Verzehr der Versuchsdiät und das Körpergewicht der Versuchstiere einschließlich der Änderung während der Versuchsdauer sind in der folgenden Tabelle 30 angegeben.

Tabelle 30

Callithrix jacchus (Max v. Pettenkofer-Institut)

Serumkonzentrationen von Purinmetaboliten nach 10tägiger Fütterung einer purinreichen Diät, Körpergewicht bei Versuchsbeginn, Gewichtsänderung und durchschnittlicher Tagesverzehr pro Käfig (= 2 Tiere)

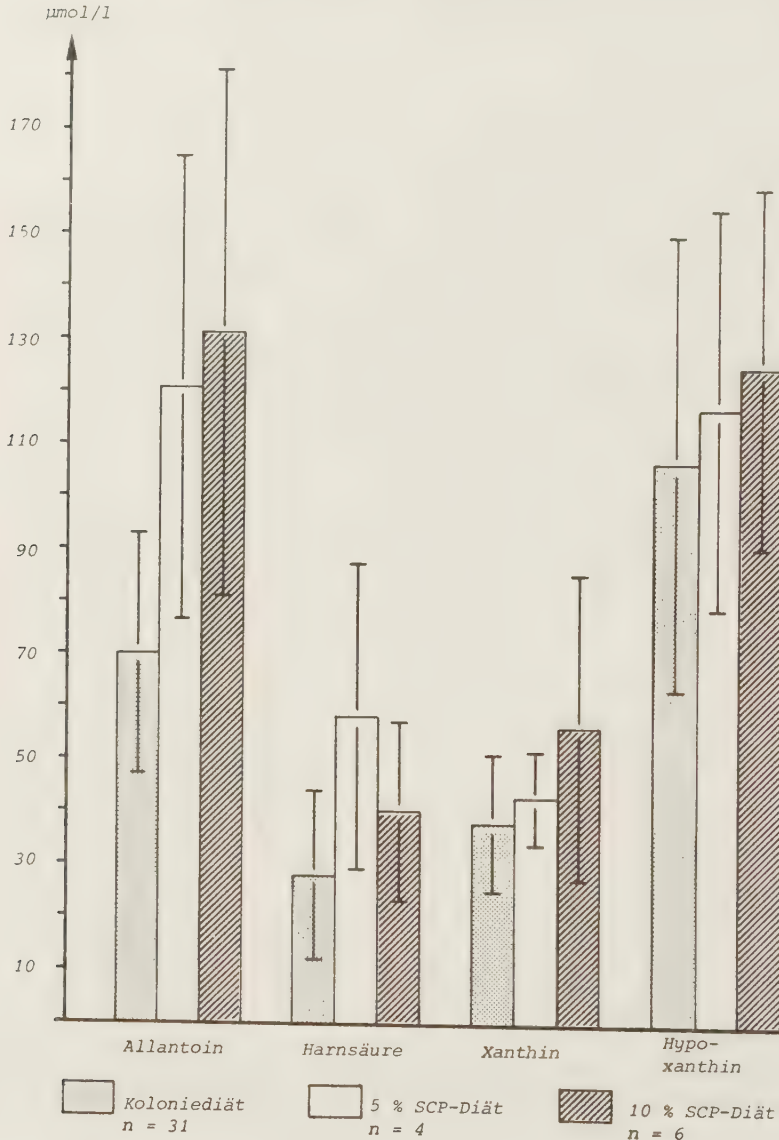
Geschlecht	Körpergewicht (g)		Diät	durchschnittlicher Tagesverzehr (g)	Purinmetabolite (µmol/l)			
	bei Versuchsbeginn	Gewichtsänderung			Allantoin	Harnsäure	Xanthin	Hypoxanthin
♀ +	320	- 15	5 % SCP	33	74	17	35	97
♂	311	+ 8			153	56	42	110
♂	461	- 13		38	94	76	40	88
♀ +	373	- 4			164	82	56	172
♂	436	- 23	10 % SCP	30	71	62	50	168
♀ +	360	- 20			93	20	40	155
♀	353	- 14		28	116	22	26	98
♂	312	- 1			141	51	32	76
♂	316	+ 7	26		166	47	79	121
♀ +	386	+ 9			207	40	101	130

Gegenüber den Werten bei der Fütterung mit der normalen Koloniediät (Nr. 13, Tabelle 2) ist nach Verabreichung der 5 % SCP-Diät die Konzentration von Allantoin (37 bis 90 $\mu\text{mol/l}$ bzw. 74 bis 164 $\mu\text{mol/l}$) signifikant erhöht ($p < 0,02$).

Nach der Fütterung mit der 10 % SCP-Diät weist sowohl die Konzentration von Allantoin (37 bis 90 $\mu\text{mol/l}$ bzw. 71 bis 207 $\mu\text{mol/l}$) als auch die von Harnsäure (0 bis 70 $\mu\text{mol/l}$ bzw. 20 bis 62 $\mu\text{mol/l}$) gegenüber den Normalwerten einen signifikanten Anstieg auf ($p < 0,002$ bzw. $p < 0,20$). Nach 10tägigem Verzehr der 10 % SCP-Diät ist ein geschlechtsspezifischer Unterschied in der Harnsäurekonzentration zwischen Männchen (47 bis 62 $\mu\text{mol/l}$) und Weibchen (20 bis 40 $\mu\text{mol/l}$) feststellbar ($p < 0,20$).

Abbildung 6

Mittelwerte und Standardabweichung der Purinmetabolitkonzentrationen im Serum von *Callithrix jacchus* bei Fütterung mit der normalen Koloniediät sowie nach jeweils 10tägiger Fütterung mit der 5 % und 10 % SCP-Diät



5. Diskussion

5.1. ANALYTIK DER PURINBASEN

Wie auch bei allen anderen nicht automatisierten, manuellen Bestimmungsmethoden steigt oder fällt die Fehlerquote der vorgestellten Methode mit der Exaktheit des Wägens und des Pipettierens bei der Herstellung der Standardlösungen und der Vorbereitung der zu analysierenden Probe (siehe 4.1.3.2. und 4.1.3.3.). Wegen der indirekten Quantifizierung der Purinbasen über den Vergleich mit Standardlösungen bekannter Konzentrationen (siehe 4.1.3.3.) kommt der Qualität der Reinsubstanzen entscheidende Bedeutung zu, die insbesondere durch Feuchtigkeit eine Beeinträchtigung erfahren kann (RIEDER, 1972).

Bei der vorgestellten Form der Analytik ist der größte Teil der Fehlerquote mit Sicherheit auf die Handauswertung (siehe 4.1.3.3.) zurückzuführen. Die Verwendung eines Integrators würde diesen Faktor beseitigen und zudem das Auswertungsverfahren erleichtern und beschleunigen.

Auf einige entscheidende Vorteile der Methode sei noch hingewiesen. Die benötigte Probenmenge ist relativ klein (siehe 4.1.3.2.). Die Beziehung zwischen Konzentration und Peakfläche ist linear (Abbildung 5). Die unspezifischen Reaktionen chemischer Nachweisverfahren werden ausgeschlossen und eine Hemmung oder Beeinträchtigung enzymatischer Reaktionen kann nicht vorkommen. Die Methode vereinigt demnach die hohe Spezifität der Hochdruck-Flüssigkeits-Chromatographie mit der erstmals beschriebenen Möglichkeit, Allantoin, Harnsäure, Xanthin und Hypoxanthin simultan in Serum und Urin zu bestimmen.

5.2. BEEINFLUSSUNG DER PURINMETABOLITKONZENTRATIONEN

5.2.1. INTENSIVE BEWEGUNG

Bei einer Betrachtung der ermittelten Purinmetabolitkonzentrationen im Plasma erkennt man, daß besonders bei den Krallenaffen (Tabellen 6 bis 10) auffallend hohe Spiegel von Hypoxanthin vorhanden sind (32 bis 207 $\mu\text{mol/l}$), die zudem eine große Streubreite aufweisen. Die Ursache dürfte darin liegen, daß die Tiere, die paarweise in Käfigen gehalten werden, mit der Hand eingefangen werden müssen, wobei sie während unterschiedlich langen Zeitspannen heftige Fluchtbewegungen ausführen. Bei dem zweiten Tier, das erst eingefangen wird, nachdem das erste punktiert wurde, addieren sich zwei Fluchtintervalle. Bei den Totenkopffaffen des Max-Planck-Instituts für Psychiatrie (Tabellen 12 und 13) ist die Situation ähnlich. Die Hypoxanthinkonzentration dieser Tiere, die mit einem Kescher aus ihrer Gruppe herausgefangen wurden, schwankt zwischen 55 und 159 $\mu\text{mol/l}$.

Beim Menschen haben SUTTON et al. (1980) eine Erhöhung der Oxypurinkonzentration (Hypoxanthin und Xanthin) im Plasma nach körperlicher Belastung von 19 μM auf 50 μM festgestellt. Diese Beobachtung wird durch die Arbeiten von PATTERSON et al. (1982) und HARKNESS et al. (1983) bestätigt, die feststellten, daß sich vor allem der Hypoxanthinspiegel signifikant erhöht (von 1,6 $\mu\text{mol/l}$ auf 25,2 $\mu\text{mol/l}$ bzw. von 1,6 $\mu\text{mol/l}$ auf 17,3 $\mu\text{mol/l}$). Dies ist auf den Verbrauch von ATP im Muskel zurückzuführen, dessen hauptsächlicher extrazellulärer Metabolit das Hypoxanthin ist (MURRAY, 1971). Die gleichzeitig zu erwartende Konzentrationssteigerung der nachfolgenden Abbauprodukte Xanthin und Harnsäure ist von der Dauer des Belastungszustandes abhängig. SUTTON et al. (1980)

ermittelten keinen Anstieg der Harnsäure bei intensiven Kurzzeitbelastungen bis 4 Minuten, jedoch eine deutliche Konzentrationserhöhung bei Dauerbelastung. Als Begründung vermuten sie eine unterschiedliche Dauer und Intensität der Hypoxie im Gewebe. HARKNESS et al. (1983) fanden bei zweiminütiger Belastung des Menschen außer der starken Erhöhung von Hypoxanthin nur eine leichte von Xanthin und ebenfalls keine Veränderung der Harnsäure.

Aufzeichnungen über die Reihenfolge, in der die Tiere zur Blutentnahme aus ihrer Gruppe herausgefangen wurden, liegen nur für die Totenkopffaffen vom romanischen Typ des Max-Planck-Instituts für Psychiatrie (Tabelle 12) vor. Sie ergeben zusammen mit der ermittelten Hypoxanthinkonzentration im Serum folgendes Bild:

Reihenfolge des Einfangens	1	2	3	4	5
Hypoxanthinkonzentration ($\mu\text{mol/l}$)	93	106	122	113	156

Die Hypoxanthinkonzentration steigt also mit Ausnahme des vierten Tieres parallel zur Rangfolge an, in der die Tiere eingefangen wurden, das heißt, sie spiegelt deutlich das Ausmaß der Beunruhigung wider, der die einzelnen Tiere durch das Einfangen ausgesetzt waren.

Wenn man zusätzlich beachtet, daß sowohl der Javaner-Affe der Gesellschaft für Strahlen- und Umweltforschung als auch die beiden des Institutes für Chirurgische Forschung (Tabelle 21) vor der Sedierung keine Fluchtmöglichkeit hatten und bei diesen Tieren im Gegensatz zu ihren Artgenossen kein Hypoxanthin bzw. nur Spuren davon im Plasma nachgewiesen werden konnte, so darf man wohl davon ausgehen, daß Affen auf intensive Bewegung ebenso mit einer Erhöhung der Hypoxanthinkonzentration im Blut reagieren wie der Mensch.

Die Zeitdauer für das Einfangen eines Krallenaffen beträgt pro Tier maximal 1 1/2 Minuten, bliebe also auch für das zweite Tier pro Käfig unter den 4 Minuten von SUTTON et al. (1980). Man kann jedoch nicht einfach davon ausgehen, daß die Xanthin-Oxidase bei Affen die gleiche Kinetik und die gleiche Verteilung im Körper aufweist wie beim Menschen, bei dem nach MOUSSON et al. (1983) nennenswerte Gewebeaktivitäten nur in Leber und Jejunum nachgewiesen wurden. Vielmehr spricht die Korrelation von Harnsäure mit Hypoxanthin und die von Allantoin mit Xanthin bei einer Berechnung über alle Neuweltaffen (siehe 4.2.2.1.) eher dafür, daß hier auch schon nach kurzer Zeit der höhere Hypoxanthinspiegel nicht nur die Konzentration von Xanthin, sondern auch die von Harnsäure und Allantoin beeinflusst. Artsspezifische Unterschiede hierbei sind zumindest bei den Neuweltaffen wahrscheinlich.

Bei eingehenderen Untersuchungen des Purinstoffwechsels in vivo ist deshalb dafür Sorge zu tragen, daß die Tiere keine Fluchtmöglichkeit vor der Blutentnahme haben oder sich einer solchen freiwillig unterziehen. Eine entsprechende Dressur soll nach BLOOD (1981) auch bei Krallenaffen möglich sein.

5.2.2. BLUTZELLEN

BOULIEU et al. (1983) stellten fest, daß sich bei längerer Lagerung von menschlichem Vollblut bei Zimmertemperatur der Hypoxanthin-Gehalt des Serums signifikant erhöht, während der Xanthin-Spiegel gleich bleibt. Dies wird auf einen Austritt von Hypoxanthin aus den Erythrozyten zurückgeführt, der sich nach der ersten Stunde der Lagerung zunehmend beschleunigt. Bezüglich des Purinstoffwechsels wurden bisher keine wesentlichen Unterschiede zwischen menschlichen Blutzellen und denen

anderer Säugetiere festgestellt. Deshalb muß man wohl annehmen, daß sich in den Blutproben, die zur Gewinnung von Serum stehen gelassen wurden, etwas vergleichbares abgespielt hat. Bei BOULIEU et al. (1983) ergibt sich bis zu 1 1/4 Stunden nach der Gewinnung des Blutes, das entspricht der Zeit bis zum Zentrifugieren der untersuchten Affenserum, ein Anstieg um rund 2 $\mu\text{mol/l}$. Man muß annehmen, daß ein ähnlicher Wert in den festgestellten Hypoxanthinkonzentrationen zusammen mit dem Normalspiegel und dem Anstieg durch die körperliche Belastung beim Fangen (siehe 5.2.1.) enthalten ist, soweit es sich um Serum als Ausgangsmaterial für die Analysen handelt (siehe 4.1.2.). Die Analysen von Plasma sind davon nicht betroffen und die Konzentrationen von Xanthin, Harnsäure und Allantoin nach den Ergebnissen von BOULIEU et al. (1983) auch nicht.

5.2.3. HALTUNGSBEDINGUNGEN

Der Einfluß des Puringehaltes der Nahrung auf die Plasmakonzentrationen der Purinmetabolite ist innerhalb der Säuger bei Mensch (GRIEBSCHE und ZÖLLNER, 1971), Dalmatiner (MAIER, 1979) und Ratte (CLIFFORD und STORY, 1976) bekannt. In der vorliegenden Arbeit wird er auch für *Callithrix jacchus* nachgewiesen (siehe 4.2.2.5.). Die Allantoinkonzentrationen der Totenkopffaffen des Max-Planck-Institutes (Tabellen 12 und 13) sind auch dann auffallend hoch, wenn man annimmt, daß der entsprechende Wert des Totenkopffaffen des Anthropologischen Institutes der Universität Zürich (Tabelle 14) erheblich unter der bisher unbekannten Norm liegen sollte. Bei einer Analyse des Futters der ersteren Tiere stellte sich heraus, daß der Puringehalt mit 17,8 mmol/kg den doppelten Wert der Krallenaffenkoloniediät des Max v. Pettenkofer-Institutes aufwies und nur um etwa 7 mmol/kg unter der niedrigeren Purinbelastungsdiät für diese Tiere lag (Tabelle 3). Man darf

deshalb annehmen, daß der Puringehalt der Nahrung auch bei anderen Affen einen entscheidenden Einfluß auf die Plasmakonzentrationen einzelner oder mehrerer Purinmetabolite hat. Sieht man von Abweichungen in der Methodik ab, so könnten hiermit zum Teil Differenzen von bisher publizierten Werten für gleiche Affenarten erklärt werden.

5.2.4. SEXUALHORMONE

Die Proben der Krallenaffenspezies *Callithrix jacchus*, *Saguinus fuscicollis* und *Saguinus labiatus* stammen alle von Tieren aus dem gleichen Haltungssystem und sind auch gleich behandelt worden. Betrachtet man bei ihnen die Mittelwerte der jeweiligen Purinkonzentrationen (Tabellen 6, 7 und 8), so fällt auf, daß sie sich mit Ausnahme der Xanthinkonzentrationen geschlechtsspezifisch unterscheiden. Signifikant sind diese Unterschiede bei *Callithrix jacchus* für Allantoin und Harnsäure und bei *Saguinus fuscicollis* für Allantoin (siehe 4.2.2.1.). Es scheint sich hierbei um eine Beeinflussung des Purinstoffwechsels durch Sexualhormone zu handeln.

Vom Menschen ist bekannt, daß ein solcher Einfluß besteht. ROUND (1980) beobachtete bei Buben, im Gegensatz zu Mädchen, einen rapiden Anstieg des Harnsäure-Spiegels im Serum während der Pubertät. Von Männern und Frauen ist in mehreren Studien nachgewiesen worden, daß sich ihre Plasma-Harnsäure-Konzentrationen signifikant unterscheiden (WERNER et al., 1970; GRIEBSCHE und ZÖLLNER, 1973; OKADA et al., 1980). Alle drei Arbeiten stellen auch einen höheren Harnsäure-Plasmaspiegel bei Frauen in der Menopause fest.

In eingehenderen Untersuchungen fanden ADAMOPOULOS et al. (1977) einen Abfall der Harnsäurekonzentrationen bei beiden Geschlechtern nach Oestrogen-Applikation, während

Testosteron keine eindeutige Wirkung zeigte. Progesteron wirkte analog zu Oestrogen, und bei Beobachtungen des Plasma-Harnsäurespiegels während des weiblichen Zyklus wurde ein gegenläufiges Verhalten zur Oestrogenkonzentration im Blut festgestellt. Diese Beobachtung würde die teilweise größere Streubreite der Konzentrationen bei den weiblichen Krallenaffen erklären (Tabellen 6, 7 und 8). Die Ursache können jedoch auch nicht erkennbare Trächtigkeiten oder bei der verhältnismäßig geringen Tierzahl zufällige Streuungen sein. Ein Einfluß der Sexualhormone auf die Purinmetabolitkonzentrationen der Krallenaffen dürfte jedoch gegeben sein.

Ob die voneinander abweichenden geschlechtspezifischen Unterschiede in den Purinmetabolitkonzentrationen bei den Spezies *Callithrix jacchus* (Tabelle 6), *Saguinus fuscicollis* (Tabelle 7) und *Saguinus labiatus* (Tabelle 8) eine differierende Wirkungsweise der Hormone widerspiegeln oder auf unterschiedlich hohe Konzentrationen zurückzuführen sind, bedarf näherer Klärung. Der minimale Anstieg der durchschnittlichen Harnsäurekonzentration um 3 $\mu\text{mol/l}$ bei den weiblichen Tieren der Spezies *Callithrix jacchus* nach 10tägiger Fütterung mit der 10 % SCP-Diät gegenüber dem Wert bei Verabreichung der normalen Koloniediät Nr. 13 (Tabellen 6 und 30) weist daraufhin, daß bei dieser Tierart die Wirkung der weiblichen Sexualhormone ebenso wie beim Menschen (ADAMOPOULOS et al., 1977) in einer erhöhten Ausscheidung der Harnsäure über die Nieren liegen könnte.

Bei künftigen Untersuchungen über den Purinstoffwechsel wäre es besser, entweder nur männliche Tiere einzusetzen oder weibliche Zyklusintervalle zu beachten. Bei Veröffentlichungen von ermittelten Purinmetabolitkonzentrationen sollte man die Geschlechter trennen, wie es einige Autoren auch schon bisher getan haben.

5.3. PURINBELASTUNGSVERSUCH

Nach dem Purinbelastungsversuch läßt sich mit Sicherheit feststellen, daß die Spezies *Callithrix jacchus* nicht nur über das Enzym Uricase verfügt, sondern daß die Umwandlungskapazität auf jeden Fall ausreicht, um auch erhebliche Mengen an Nahrungspurinen über Harnsäure in Allantoin umzuwandeln (Tabelle 30). Das zweite Ergebnis dieses Versuches ist, daß bereits ein Anteil von 5 % Einzellerprotein in der Gesamtration den Purinstoffwechsel deutlich beeinflusst (Abbildung 6). Dies ist insofern von Bedeutung, als diese Nahrungskomponente eine limitierte Akzeptanz aufweist. Dies zeigt auch der Verzehr der 5 % SCP-Diät, der deutlich über dem der 10 % SCP-Diät lag (Tabelle 30).

Auffällig ist der höhere Spiegel der Plasmaharnsäure nach Verabreichung der 5 % SCP-Diät gegenüber dem nach Fütterung mit der 10 % SCP-Diät (Abbildung 6). Von den vier Tieren, denen die erstere Diät verabreicht wurde, zeigten zwei während der Versuchsdauer einen Konzentrationsanstieg um 58 bzw. 50 $\mu\text{mol/l}$, während der Spiegel beim dritten Tier praktisch gleich blieb und beim vierten Tier sogar um 13 $\mu\text{mol/l}$ absank. Bei den sechs Tieren der anderen Versuchsgruppe schwankten die individuellen Änderungen nur zwischen -15 und +36 $\mu\text{mol/l}$. Diese größere Homogenität in der Reaktion des Tiermaterials drückt sich auch darin aus, daß die Standardabweichung ($\pm 17 \mu\text{mol/l}$) der mittleren Harnsäurekonzentration (40 $\mu\text{mol/l}$) bei den Tieren der 10 % SCP-Diät kleiner ist als bei den Tieren der 5 % SCP-Diät ($\pm 29 \mu\text{mol/l}$ und 58 $\mu\text{mol/l}$). Während der Fütterung mit der normalen Koloniediät (Nr. 13, Tabelle 2) wurden Plasmaharnsäure-Konzentrationen zwischen 10 und 70 $\mu\text{mol/l}$ für die Spezies *Callithrix jacchus* ermittelt, was eine erhebliche individuelle Schwankungsbreite im Harnsäurestoffwechsel zeigt. Diese individuellen Unterschiede

haben mit größter Wahrscheinlichkeit zusammen mit den geringen Tierzahlen die Differenz in der Konzentration der Harnsäure zwischen den beiden Versuchsgruppen verursacht, die sich umgekehrt verhält wie bei den anderen Purinmetaboliten (Tabelle 30).

5.4. INDIVIDUELLE UND SPEZIESUNTERSCHIEDE IM PURINSTOFFWECHSEL

Bei der Berechnung von Korrelationen der einzelnen Purinmetabolite untereinander ergeben sich über das gesamte Tiermaterial für alle Abbaustufen hochsignifikante Beziehungen (Tabelle 29), deren unterschiedliche Korrelationskoeffizienten durch den voneinander abweichenden Purinstoffwechsel der einzelnen Spezies begründet sind. So ergibt sich zum Beispiel die negative Korrelation von Harnsäure und Allantoin aus dem Umstand, daß den Hominoidea mit ihren hohen Harnsäurespiegeln und praktisch keinem Allantoin die übrigen Altweltaffen gegenüberstehen, die zwar Allantoin im Blut haben, aber praktisch keine Harnsäure.

Bei einigen Altweltaffen (Tabellen 18 bis 23) wurden zwar deutlich voneinander abweichende Xanthinkonzentrationen festgestellt (0 bis 32 $\mu\text{mol/l}$), angesichts der oben dargelegten Einflüsse (siehe 5.2.) und der verhältnismäßig kleinen Tierzahl lassen sich jedoch keine Schlußfolgerungen daraus ziehen. Mit Ausnahme des Allantoins (33 bis 107 $\mu\text{mol/l}$) weisen die untersuchten Purinmetabolite bei den Cercopithecidae nur verhältnismäßig niedrige Konzentrationen im Serum auf. Es dürfte deshalb auch bei großen Tierzahlen wahrscheinlich nicht möglich sein, signifikante Speziesunterschiede im Purinmetabolismus innerhalb dieser Familie festzustellen.

Im Gegensatz zu den Hundsaffen mit ihrem 'kompletten Purinstoffwechsel' darf man bei den Neuweltaffen wohl behaupten, daß sich einzelne Arten im Metabolismus der Purine erheblich voneinander unterscheiden (Tabelle 11). Bei den fünf untersuchten Krallenaffenarten, die ja alle aus demselben Haltungssystem stammen, deuten sowohl die ermittelten Purinmetabolitkonzentrationen im Plasma (Tabellen 6 bis 10) als auch die abweichenden Korrelationen der einzelnen Metabolite untereinander auf recht unterschiedliche Ausprägungen des Purinstoffwechsels hin. Die Ursachen hierfür können unterschiedliche Enzymaktivitäten und -verteilungsmuster, abweichende Transportsysteme oder Nierenfunktionen sein und bedürfen eingehender Untersuchungen.

Innerhalb einzelner Arten sind Werte festzustellen, die starke individuelle Ausprägungen aufweisen. So bewegt sich zum Beispiel bei *Callithrix jacchus* ($n = 31$) die Konzentration für Allantoin zwischen 37 und 133 $\mu\text{mol/l}$ und für Harnsäure zwischen 10 und 70 $\mu\text{mol/l}$, für *Saguinus mystax* ($n = 5$) sind die entsprechenden Bereiche 48 bis 187 $\mu\text{mol/l}$ bzw. 0 bis 57 $\mu\text{mol/l}$. Auch bei der Diskussion des Purinbelastungsversuches (siehe 5.3.) wurde schon auf unterschiedliche individuelle Reaktionen hingewiesen.

Wenn man beachtet, daß beim Menschen die Plasmaharnsäurespiegel familiäre Gemeinsamkeiten aufweisen (FRENCH et al., 1967; AHERN et al., 1980) und die Heritabilität für diesen Wert mindestens 0,3 beträgt (PARK, 1980), so liegt die Vermutung nahe, daß es bei entsprechender Auswahl möglich sein könnte, aus einer Neuweltaffen-Spezies Linien mit menschenähnlichem Reaktionstypus als Modell für die Gichtforschung herauszuzüchten.

Der festgestellte Unterschied in der Plasma-Allantoinkonzentration zwischen dem gotischen und dem romanischen Typ der Totenkopffäffchen aus dem Max-Planck-Institut für Psychiatrie (Tabellen 12 und 13) könnte auch an der unterschiedlichen Vorgeschichte der Tiere liegen. Nach Auskunft von Herrn Dr. Maurus wurden die Tiere vom gotischen Typ von einem pharmazeutischen Betrieb übernommen und waren bei ihrer Ankunft stark abgemagert und deutlich verhaltensgestört.

6. Zusammenfassung

Die Konzentrationen der vier am Purinstoffwechsel beteiligten Metabolite Allantoin, Harnsäure, Xanthin und Hypoxanthin wurden im Serum von verschiedenen Affenarten mit Hilfe einer erstmals vorgestellten Methode bestimmt, die es unter Anwendung der Umkehrphasen-Hochdruck-Flüssigkeits-Chromatographie (HPLC) erlaubt, alle vier Stoffe simultan zu quantifizieren.

Zur Analyse gelangten 148 Blutproben und eine Harnprobe von 18 Spezies simischer Primaten. Darin enthalten sind zehn Tiere der Krallenaffenart *Callithrix jacchus*, von denen während 10 Tagen vier Tiere eine Diät mit einem Gewichtsanteil von 5 % purinreichem Einzellerprotein (SCP) und sechs Tiere eine Diät mit 10 %igem SCP-Anteil erhielten, um die Auswirkung einer Belastung des Purinstoffwechsels durch die Nahrung zu studieren.

Die Ergebnisse sind nach den einzelnen Arten getrennt in Tabellen aufgeführt und werden dahingehend diskutiert, daß die Konzentration einzelner oder mehrerer Purinmetabolite beeinflußt werden kann durch die Haltung der Tiere, die Behandlung der Tiere vor der Blutentnahme, die Behandlung der Blutproben und das Geschlecht der Tiere.

Es wird festgestellt, daß die Spezies *Callithrix jacchus* über ein leistungsfähiges System zur Umwandlung von Nahrungspurinen in Allantoin verfügt und daß die untersuchten Krallenaffen von Art zu Art recht unterschiedliche Konzentrationen der vier Purinmetabolite im Serum aufweisen, die zusätzlich beträchtlichen individuellen Schwankungen unterliegen.

7. Summary

PURINE METABOLITES IN THE SERUM OF VARIOUS HIGHER PRIMATES

The concentration of the four compounds allantoin, uric acid, xanthine, and hypoxanthine, associated with the degradation of purines was determined in the serum of various simian primates. A new method was used enabling one to quantify all four metabolites simultaneously by reversed-phase high-pressure liquid chromatography (HPLC).

A total of 148 blood-samples and one urine-sample from 18 different species of higher primates, including man, were analysed. The total number includes 10 individuals of the common marmoset (*Callithrix jacchus*) that were fed a special diet containing single cell protein (SCP) rich in purines over a period of 10 days. Four of the animals received a diet with 5 % SCP and six animals with 10 % SCP of the total amount. The purpose was to study changes in the purine metabolite plasma concentration under a load of dietary purines.

The results within the different species are listed in tables and discussed. Strong evidence was found that the way the animals are kept, the manner in which they are caught for vein-puncture, the treatment of the sample, and the sex of the individuals influences the concentration of one or more purine metabolites in the serum.

Based on his results the author believes that *Callithrix jacchus* possesses a metabolic system that readily converts large amounts of nutritional purines into allantoin. It is also demonstrated that the species of marmosets and tamarins studied show quite different serum concentrations of the four analysed compounds. In addition the individual levels are partially spread over a wide range.

8. Literaturverzeichnis

- ABRAHAM, J.; SIMEONE, F.A.; HOPKINS, R.W., 1976
A sensitive assay for allantoin
Anal. Biochem. 70: 377-380
- ADAMOPOULOS, D.; VLASSOPOULOS, C.; SEITANIDES, B.;
CONTOYIANNIS, P.; VASSILOPOULOS, P., 1977
The relationship of sex steroids to uric acid levels
in plasma and urine
Acta Endocrinol. 85: 198-208
- AHERN, F.M.; JOHNSON, R.C.; ASHTON, G.C., 1980
Family Resemblances in Serum Uric Acid Level
Behav. Genet. 10: 303-307
- ALVSAKER, J.O., 1966
Uric acid in human plasma V. Isolation and identification of plasma proteins interacting with urate
Scand. J. Clin. Lab. Invest. 18: 227-239
- ANKEL, F., 1970
Einführung in die Primatenkunde
Gustav Fischer Verlag, Stuttgart
- BABA, M.; DARGA, L.; GOODMAN, M., 1980
Biochemical Evidence on the Phylogeny of Anthropeidea
in: Evolutionary Biology of the New World Monkeys
and Continental Drift S. 423-443
Hrsg. Ciochon, R.L. und Chiarelli, A.B.
Plenum Press, New York
- BELAND, M.F.; SEHGAL, P.K.; PEACOCK, W.C., 1979
Baseline Blood Chemistry Determinations in the
Squirrel Monkey (*Saimiri sciureus*)
Lab. Anim. Sci. 29: 195-199
- BENEDICT, S.R., 1916
Uric Acid in its relations to metabolism
Harvey Lect. 11: 346-365
- BERLIN, R.D.; HAWKINS, R.A., 1968
Secretion of purines by the small intestine: general
characteristics
Am. J. Physiol. 215: 932-941
- BLOOD, B., 1981
Mitteilung in einem Vortrag
im Max v. Pettenkofer-Institut, München
- BORCHERS, R., 1977
Allantoin determination
Anal. Biochem. 79: 612-613

- BOULIEU, R.; BORY, C.; BALTASSAT, P., 1982
High-performance liquid chromatographic determination
of hypoxanthine and xanthine in biological fluids
J. Chromatogr. 233: 131-141
- BOULIEU, R.; BORY, C.; BALTASSAT, P.; GONNET, C., 1983
Hypoxanthine and Xanthine Levels Determined by High-
Performance Liquid Chromatography in Plasma, Erythrocyte,
and Urine Samples from Healthy Subjects: The Problem
of Hypoxanthine Level Evolution as a Function of Time
Anal. Biochem. 129: 398-404
- BROWN, N.D.; KINTZIOS, J.A.; KOETITZ, S.E., 1979
Determination of hypoxanthine, xanthine, and uric acid
in biological fluids by ion-pair high performance liquid
chromatography
J. Chromatogr. 177: 170-173
- BUDDECKE, E., 1980
Grundriss der Biochemie 6. Aufl.
De Gruyter Verlag, Berlin
- CAMPION, D.S.; OLSEN, R.; BLUESTONE, R.; KLINENBERG, J.R.,
1975
Binding of urate by serum proteins
Arthritis Rheum. 18 (6 Suppl.): 747-749
- CHRISTEN, A., 1974
Fortpflanzungsbiologie und Verhalten bei Cebus
pygmaea und Tamarin tamarin
Fortschr. Verhaltensforsch. 14: 1-79
zugleich Beiheft Nr. 14 zur Z. Tierpsych.
- CHRISTEN, P.; PEACOCK, W.C.; CHRISTEN, A.E.; WACKER, W.E.C.,
1970a
Urate Oxidase in Primate Phylogenesis
Eur. J. Biochem. 12: 3-5
- CHRISTEN, P.; PEACOCK, W.C.; CHRISTEN, A.E.; WACKER, W.E.C.,
1970b
Urate Oxidase in Primates
Folia primat. 13: 35-39
- CHRISTMAN, A.A.; FOSTER, P.W.; ESTERER, M.B., 1944
The allantoin content of blood
J. Biol. Chem. 155: 161-171
- CIOCHON, R.L.; CHIARELLI, A.B., 1980a
Paleobiogeographic Perspectives on the Origin of the
Platyrrhini
in: Evolutionary Biology of the New World Monkeys and
Continental Drift S. 459-493
Hrsg. Ciochon, R.L. und Chiarelli, A.B.
Plenum Press, New York

- CIOCHON, R.L.; CHIARELLI, A.B., 1980b
Concluding Remarks
in: Evolutionary Biology of the New World Monkeys and
Continental Drift S. 495-501
Hrsg. Ciochon, R.L. und Chiarelli, A.B.
Plenum Press, New York
- CLEVINGER, A.B.; MARSH, W.L.; PERRY, T.M., 1971
Clinical Laboratory Studies of the Gorilla, Chimpanzee,
and Orangutan
Am. J. Clin. Pathol. 55: 479-488
- CLIFFORD, A.J.; STORY, D.L., 1976
Levels of Purines in Foods and Their Metabolic Effects
in Rats
J. Nutr. 106: 435-442
- DE DUVE, C.; BAUDHUIN, P., 1966
Peroxisomes (Microbodies and Related Particles)
Physiol. Rev. 46: 323-357
- DISKIN, C.J., 1981
Uric acid levels and renal blood flow
Ann. Intern. Med. 95: 123-124
- D'MELLO, J.P.F., 1982
Utilization of dietary purines and pyrimidines by
non-ruminant animals
Proc. Nutr. Soc. 41: 301-308
- DUKES, C.E.; STEPLOCK, D.A.; KAHN, A.M.; WEINMAN, E.J.,
1982
The transport of urate in the small intestine of the
rat
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 171: 19-23
- FANELLI, G.M.; BOHN, D.L.; RUSSO, H.F., 1970
Renal clearance of uric acid in nonhuman primates
Comp. Biochem. Physiol. 33: 459-464
- FANELLI, G.M.; BEYER, K.H., 1975
Uric acid in nonhuman primates with special reference
to its renal transport
Ann. Rev. Pharmacol. 14: 355-364
- FARRELL, P.C., 1974
Protein Binding of Urate Ions in vitro and in vivo
Progr. biochem. Pharmacol. 9: 153-162
- FELDHEIM, W.; PAYER, H.D.; SAOVAKONTHA, S.; PONGPAEW, P.,
1973
The uric acid level in human plasma during a nutrition
test with microalgae in Thailand
Southeast Asian J. Trop. Med. Pub. Health 4: 413-416

- FIEDLER, W., 1956
Übersicht über das System der Primates
in: *Primatologia, Handbuch der Primatenkunde* S. 1-266
Hrsg. Hofer, H.; Schultz, A.H.; Starck, D.
S. Karger Verlag, Basel
- FLURER, C.; Scheid, R.; Zucker, H., 1983
Evaluation of a Pelleted Diet in a Colony of Marmosets
and Tamarins
Lab. Anim. Sci. 33: 264-267
- FRENCH, J.G.; DODGE, H.J.; KJELSBERG, M.O.; MIKKELSEN, W.M.;
SHULL, W.J., 1967
A study of familial aggregation of serum uric acid
levels in the population of Tecumseh, Michigan, 1959-1960
Am. J. Epidemiol. 86: 214-224
- GAEBLER, S., 1981
Untersuchungen über den Purinstoffwechsel des Dalmatiner-
Hundes bei erhöhter Aufnahme von Nucleinsäuren
Vet. med. Diss., München
- GIESECKE, D.; TIEMEYER, W., 1982
Availability and metabolism of purines of single-cell
proteins in monogastric animals
Proc. Nutr. Soc. 41: 319-327
- GIESECKE, D.; GAEBLER, S.; TIEMEYER, W., 1982
Purine Availability and Metabolism in Dogs Fed Single-
Cell Protein or RNA
J. Nutr. 112: 1822-1826
- GOLDFINGER, S.; KLINENBERG, J.R.; SEEGMILLER, J.E., 1965
The Renal Excretion of Oxypurines
J. Clin. Invest. 44: 623-628
- GREGER, R.; LANG, F.; PULS, F.; DEETJEN, P., 1974
Urate Interaction with Plasma Proteins and Erythrocytes.
Possible mechanism for urate reabsorption in kidney
medulla
Pflügers Arch. 352: 121-133
- GREGER, R.; LANG, F.; DEETJEN, P., 1975
Handling of Allantoin by the Rat Kidney. Clearance and
Micropuncture Data
Pflügers Arch. 357: 201-207
- GREGER, R.; LANG, F.; DEETJEN, P., 1976
Renal Excretion of Purine Metabolites, Urate and
Allantoin by the Mammalian Kidney
Int. Rev. Physiol. 11: 257-281

- GRIEBSCH, A.; ZÖLLNER, N., 1971
Harnsäure-Plasmaspiegel und renale Harnsäureausscheidung
bei Belastung mit Algen, einer purinreichen Eiweißquelle
Verh. Dtsch. Ges. Inn. Med. 77: 173-177
- GRIEBSCH, A.; ZÖLLNER, N., 1973
Normalwerte der Plasmaharnsäure in Süddeutschland.
Vergleich mit Bestimmungen vor zehn Jahren
Z. Klin. Chem. Klin. Biochem. 11: 346-356
- GRIEBSCH, A.; KAISER, W., 1976
Einfluß exogener Purine auf den Harnsäurestoffwechsel
in: Handbuch der inneren Medizin Band 7 Teil 3 Gicht
6. Auflage S. 123-138
Hrsg. Zöllner, N.; Gröbner, W.
Springer Verlag, Berlin
- GROVES, C.P., 1972
Phylogeny and Classification of Primates
in: Pathology of Simian Primates Band I
General Pathology S. 11-57
Hrsg. T-W-Fiennes, R.N.
S. Karger Verlag, Basel
- GRZIMEK, B., 1967
Tierleben Band X
Kindler Verlag, Zürich
- GUTMAN, A.B., 1965
Significance of Uric Acid as a Nitrogenous Waste in
Vertebrate Evolution
Arthritis Rheum. 8: 614-626
- HARKNESS, R.A.; SIMMONDS, R.J.; COADE, S.B., 1983
Purine transport and metabolism in man: the effect of
exercise on concentrations of purine bases, nucleosides
and nucleotides in plasma, urine, leucocytes and
erythrocytes
Clin. Sci. 64: 333-340
- HEINEMANN, D., 1967
Kapuzinerartige Neuweltaffen
in: Grzimeks Tierleben Band X S. 350-383
Hrsg. Grzimek, B.
Kindler Verlag, Zürich
- HITCHINGS, G.H., 1978
Uric acid: Chemistry and Synthesis
in: Handbook of Experimental Pharmacology Band 51
Uric Acid S. 211-255
Hrsg. Kelley, W.N. und Weiner, I.M.
Springer Verlag, Berlin

- HOLMES, A.W.; PASSOVOY, M.; CAPPS, R.B., 1967
Marmosets as Laboratory Animals
III. Blood Chemistry of Laboratory-Kept
Marmosets with Particular Attention to Liver
Function and Structure
Lab. Anim. Care 17: 41-47
- HORNAWSKY, G.; MÜLLER, H., 1980
Bestimmung von Allantoin in Serum und Harn landwirtschaftlicher Nutztiere
Arch. exp. Vet. med. 34: 333-337
- HRUBAN, Z.; RECHCIGL, M., 1969
Microbodies and related particles: morphology, biochemistry and physiology
Int. Rev. Cytol. Suppl. 1: 1-296
- KARLSON, P., 1980
Kurzes Lehrbuch der Biochemie 11. Auflage
Georg Thieme Verlag, Stuttgart
- KEILIN, J., 1959
The biological significance of uric acid and guanine excretion
Biol. Rev. 34: 265-296
- KISER, E.J.; JOHNSON, G.F.; WITTE, D.L., 1978
Serum Uric Acid Determined by Reversed-Phase Liquid Chromatography with Spectrophotometric Detection
Clin. Chem. 24: 536-540
- KISSINGER, P.T.; PACHLA, L.A., 1975
Estimation of serum uric acid by high-performance liquid chromatography with electrochemical detection
Clin. Chim. Acta 59: 309-312
- KLINENBERG, J.R.; KIPPEN, I., 1970
The binding of urate to plasma proteins determined by means of equilibrium dialysis
J. Lab. Clin. Med. 75: 503-510
- KOVARSKY, J.; HOLMES, E.W.; KELLEY, W.N., 1979
Absence of significant urate binding to human serum proteins
J. Lab. Clin. Med. 93: 85-91
- LINDPAINTNER, E., 1956
Über Bestimmungsfehler, die durch Volumsänderungen bei Eiweißfällung entstehen
Aerztl. Labor 2: 368-375

- LÖFFLER, W.; GRÖBNER, W.; MEDINA, R.; ZÖLLNER, N., 1982
Influence of Dietary Purines on Pool Size, Turnover,
and Excretion of Uric Acid During Balance Conditions
Res. Exp. Med. 181: 113-123
- LOGAN, D.C.; WILSON, D.E.; FLOWERS, C.M.; SPARKS, P.J.;
TYLER, F.H., 1976
Uric Acid Catabolism in the Woolly Monkey
Metabolism 25: 517-522
- MAIER, J., 1979
Untersuchungen zur Eignung des Dalmatiner-Hundes als
Modell für alimentäre Hyperuricämie
Vet. med. Diss., München
- MASTERS, C.; HOLMES, R., 1977
Peroxisomes: new aspects of cell physiology and
biochemistry
Physiol. Rev. 57: 816-870
- MC CLURE, H.M.; KEELING, M.E.; GUILLOUD, N.B., 1972
Hematologic and Blood Chemistry Data for the Chimpanzee
(Pan troglodytes)
Folia primat. 18: 444-462
- MILLER, A.A.; BENVENUTO, J.A.; LOO, T.L., 1982
Comparison of the reversed-phase high-performance
liquid chromatographic separations of fluoropyrimidines,
pyrimidines, and purines
J. Chromatogr. 228: 165-176
- MILNER, J.A.; PERKINS, E.G., 1978
Determination of Uric Acid in Biological Fluids by
High-Pressure Liquid Chromatography
Anal. Biochem. 88: 560-565
- MOUSSON, B.; DESJAQUES, P.; BALTASSAT, P., 1983
Measurement of Xanthine Oxidase Activity in Some Human
Tissues. An Optimized Method
Enzyme 29: 32-43
- MÜLLER, M.M.; LEGENSTEIN, E.; KAISER, E., 1974
Vergleich der Harnsäurebestimmungen
Wien. Klin. Wochenschr. 86: 373-376
- MURRAY, A.W., 1971
The biological significance of purine salvage
Ann. Rev. Biochem. 40: 811-826
- NAPIER, J.R.; NAPIER, P.H., 1967
A Handbook of Living Primates
Academic Press, London

- NOWAK, R.M.; PARADISO, J.L., 1983
Walker's Mammals of the World
4. Auflage Band I
The Johns Hopkins University Press, Baltimore
- OKADA, M.; TAKESHITA, M.; UEDA, K.; OMAE, T.; HIROTA, Y.,
1980
Factors influencing the serum uric acid level.
A study based on a population survey in Hisayama town
J. Chronic Dis. 33: 607-612
- OROWAN, E., 1955
The origin of man
Nature 175: 683-684
- PARK, K.S., 1980
Plasma and urine uric acid levels; heritability
estimates and correlation with IQ
Jap. J. Hum. Genet. 25: 193-202
- PATTERSON, V.H.; KAISER, K.K.; BROOKE, M.H., 1982
Forearm exercise increases plasma hypoxanthine
J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry 45: 552-553
- PETERS, J.P.; VAN SLYKE, D.D., 1946
Quantitative clinical chemistry Band I
Williams & Wilkins, Baltimore
- PFADENHAUER, E.H., 1973
Rapid determination of some plasma oxypurines using
high-pressure liquid chromatography
J. Chromatogr. 81: 85-92
- RIEDER, S.V., 1972
Uric acid standards
Am. J. Clin. Pathol. 58: 224
- ROCH-RAMEL, F.; PETERS, G., 1978
Urinary Excretion of Uric Acid in Nonhuman Mammalian
Species
in: Handbook of Experimental Pharmacology Band 51
Uric acid S. 211-255
Hrsg. Kelley, W.N. und Weiner, I.M.
Springer Verlag, Berlin
- ROCH-RAMEL, F.; DIEZI-CHOMETY, F.; ROTH, L.; WEINER, I.M.,
1980
A Micropuncture Study of Urate Excretion by Cebus
Monkeys Employing High Performance Liquid Chromatography
with Amperometric Detection of Urate
Pflügers Arch. 383: 203-207

- ROUND, J.M., 1980
Changes in plasma urate, creatinine, alkaline phosphatase and the 24 hour excretion of hydroxyproline during sexual maturation in adolescents
Ann. Hum. Biol. 7: 83-88
- SACHS, L., 1978
Angewandte Statistik. Statistische Methoden und ihre Anwendungen
5. Auflage von Statistische Auswertungsmethoden
Springer Verlag, Berlin
- SAUGSTAD, O.D.; WUNG, W.E.; HOWELL, S.B.; GLUCK, L., 1982
Determination of plasma hypoxanthine, a comparison of high-pressure liquid chromatography and oxygen-consumption methods
Anal. Biochem. 122: 159-163
- SCHULTZ, A.H., 1971
Die Primaten
Editions Rencontre, Lausanne
- SCHWEDT, G., 1979
Chromatographische Trennmethoden
Georg Thieme Verlag, Stuttgart
- SIMKIN, P.A.; HEALEY, L.A.; SMUCKLER, E., 1970
Monkey uricase
N. Engl. J. Med. 283: 823-824
- SIMKIN, P.A., 1972
Uric Acid Binding to Serum Proteins: Differences Among Species
Proc. Soc. exp. Biol. 139: 604-606
- SØRENSEN, L.B., 1965
Role of the Intestinal Tract in the Elimination of Uric Acid
Arthritis Rheum. 8: 694-706
- STAHL, A.; SCHANG, A.-M.; BROGARD, J.-M.; COUMAROS, C., 1970
Technique de dosage de l'allantoïne sérique et étude de l'action de l'uricase
Ann. Biol. clin. 28: 377-385
- STARCK, D., 1978
Vergleichende Anatomie der Wirbeltiere auf evolutionsbiologischer Grundlage
Band 1 Theoretische Grundlagen
Springer Verlag, Berlin

- STATEN, F.W.; EDWARDS, R.H.; FAHLSTROM, P.; GOINS, E.;
COOPER, Z.; SCHWANDT, V., 1961
Physiological base-line studies of zoological
specimens. Serum biochemical values of chimpanzees
Air Force Missile Develop. Ctr. Tech. Rep. 61-25
- SUMI, T.; UMEDA, Y.; KISHI, Y.; KAKIMOTO, F.;
TAKAHASHI, K., 1976
A Spectrofluorometric Method for Determining Plasma
Allantoin Based on the Glyoxylate Reductase Reaction
Anal. Biochem. 75: 563-567
- SUTTON, J.R.; TOEWS, C.J.; WARD, G.R.; FOX, I.H., 1980
Purine Metabolism During Strenuous Muscular Exercise
in Man
Metabolism 29: 254-260
- TARLING, D.H., 1980
The Geologic Evolution of South America with Special
Reference to the Last 200 Million Years
in: Evolutionary Biology of the New World Monkeys
and Continental Drift S. 1-39
Hrsg. Ciochon, R.L. und Chiarelli, A.B.
Plenum Press, New York
- THENIUS, E., 1980
Grundzüge der Faunen- und Verbreitungsgeschichte der
Säugetiere. Eine historische Tiergeographie 2. Auflage
Gustav Fischer Verlag, Stuttgart
- TIEMEYER, W.; ERBERSDOBLER, H.; GIESECKE, D., 1981
Charakterisierung der Nucleinsäurefraktion und Amino-
säuremuster in Einzeller-Proteinen als potentielle
Nahrungsmittel
Z. Lebensm. Unters. Forsch. 173: 301-305
- TIEMEYER, W.; GIESECKE, D., 1982
Quantitative Determination of Allantoin in Biological
Fluids by Reversed-Phase High-Pressure Liquid
Chromatography
Anal. Biochem. 123: 11-13
- TRUSZKOWSKI, R., 1928
The purinolytic enzymes of the leech (*Hirudo medicinalis*)
and the fresh-water mussel (*Anodonta*)
Biochem. J. 22: 1299-1301
- VAJROPALA, K., 1935
Guanine in the excreta of arachnids
Nature 136: 145
- WATTS, R.W.E.; WATTS, J.E.M.; SEEGMILLER, J.E., 1965
Xanthine oxidase activity in human tissues and its
inhibition by allopurinol
J. Lab. Clin. Med. 66: 688-697

- WEINER, I.M., 1979
Urate transport in the nephron
Am. J. Physiol. 237: F85-F92
- WEINMAN, E.J.; STEPLOCK, D.; SANSOM, S.C.; KNIGHT, T.F.;
SENEKJIAN, H.O., 1981
Use of high-performance liquid chromatography for
determination of urate concentrations in nanoliter
quantities of fluid
Kidney Int. 19: 83-85
- WELLDE, B.T.; JOHNSON, A.J.; WILLIAMS, J.S.; LANGBEHN, H.R.;
SADUN, E.H., 1971
Hematologic, biochemical, and parasitologic parameters
of the night monkey (*Aotus trivirgatus*)
Lab. Anim. Sci. 21: 575-580
- WELLS, H.G., 1910
The purine metabolism of the monkey
J. Biol. Chem. 7: 171-183
- WELLS, H.G.; CALDWELL, G.T., 1914
The purine enzymes of the orang-utan (*simia satyrus*)
and chimpanzee (*anthropopithecus troglodytes*)
J. Biol. Chem. 18: 157-165
- WERNER, M.; TOLLS, R.E.; HULTIN, J.V.; MELLECKER, J.,
1970
Influence of Sex and Age on the Normal Range of Eleven
Serum Constituents
Z. Klin. Chem. Klin. Biochem. 8: 105-115
- WIECHOWSKI, W., 1908
Die Bedeutung des Allantoins im Harnsäurestoffwechsel
Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol. 11: 109-131
- WIECHOWSKI, W., 1909
Das Vorhandensein von Allantoin im normalen Menschen-
harn und seine Bedeutung für die Beurteilung des
menschlichen Harnsäurestoffwechsels
Biochem. Zeitschr. 19: 368-383
- WIECHOWSKI, W., 1910
Das Schicksal intermediärer Harnsäure beim Menschen
und der Allantoingehalt des menschlichen Harns;
nebst Bemerkungen über Nachweis und Zersetzlichkeit
des Allantoins
Biochem. Zeitschr. 25: 431-459
- WIECHOWSKI, W., 1912a
Beiträge zur Physiologie und Pharmakologie des
Purinhaushaltes der Säugetiere
Prager Med. Wochenschr. 37: 289-290

- WIECHOWSKI, W., 1912b
Ein Beitrag zur Kenntnis des Purinstoffwechsels der Affen
Prager Med. Wochenschr. 37: 275-276
- WUNG, W.E.; HOWELL, S.B., 1980
Simultaneous Liquid Chromatography of 5-Fluorouracil, Uridine, Hypoxanthine, Xanthine, Uric Acid, Allopurinol, and Oxipurinol in Plasma
Clin. Chem. 26: 1704-1708
- YOUNG, E.G.; CONWAY, C.F., 1942
On the estimation of allantoin by the Rimini-Schryver reaction
J. Biol. Chem. 142: 839-853
- ZAIDI, Z.R.; SENA, F.J.; BASILIO, C.P., 1982
Stability Assay of Allantoin in Lotions and Creams by High-Pressure Liquid Chromatography
J. Pharm. Sci. 71: 997-999
- ZAKARIA, M.; BROWN, P.R., 1981
High-performance liquid column chromatography of nucleotides, nucleosides and bases
J. Chromatogr. 226: 267-290
- ZÖLLNER, N.; GRIEBSCH, A.; GRÖBNER, W., 1972
Einfluß verschiedener Purine auf den Harnsäurestoffwechsel
Ernährungsumschau 19: 79-82
- ZÖLLNER, N., 1982
Purine and pyrimidine metabolism
Proc. Nutr. Soc. 41: 329-342

Mein ganz besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. H. Zucker, von dem ich das Thema für diese Arbeit erhielt und bei dem ich bei allen Problemen immer freundliche Unterstützung fand.

Herrn Prof. Dr. D. Giesecke möchte ich für die Arbeitsmöglichkeiten in seinem Labor danken.

Bei Herrn Dr. W. Tiemeyer bedanke ich mich für viele Anregungen bei der Entwicklung der Methodik und für die Analyse des Puringehaltes der verschiedenen Affenfutter.

Herrn Prof. Dr. Dr. K. Osterkorn danke ich für die rechnergestützte Ermittlung von Korrelationskoeffizienten der Purinmetabolite und deren Signifikanzen.

Herzlich bedanken möchte ich mich auch bei den nachfolgenden Personen, die mir durch die freundliche Überlassung von Blutproben sehr geholfen haben.

Herr Dr. F. Gruber, Tierforschungsanlage der Universität
Konstanz

Herr Dr. F. Krombach, Institut für Chirurgische Forschung
der Universität München, Klinikum
Großhadern

Herr Dr. M. Maurus, Max-Planck-Institut für Psychiatrie

Herr Dr. W. Rietschel, Tierpark Hellabrunn, München.
Zoologischer Direktor Dr. H. Wiesner

Herr Dr. L. Ruprecht, Gesellschaft für Strahlen- und
Umweltforschung, Neuherberg bei
München

Herr Dr. W. Scheffrahn und Herr Dr. D. Glaser,
Anthropologisches Institut der
Universität Zürich

Frau Dr. R. Scheid und Frau Dr. C. Flurer,
Max v. Pettenkofer-Institut für
Hygiene und Medizinische Mikrobiologie
der Universität München.
Vorstand Prof. Dr. F. Deinhardt

Herr Dr. H.-P. Scheuber, Chirurgische Klinik Innenstadt
der Universität München, Tierlabor
der Abteilung für Klinische Chemie
und Klinische Biochemie.
Abt.-Leiter Prof. Dr. Dr. H. Fritz

Herr Prof. Dr. J. Schmitt, Institut für Anthropologie
und Humangenetik der
Universität Tübingen

LEBENS LAUF

Name: Schreiber, Gernot Berthold Vito

geboren: 3.10.1946 in Rosenheim

Eltern: Günter Schreiber, Oberstleutnant i.R.,
gestorben 9.3.1979,
und Ingeborg Schreiber geb. Dreßler

Familienstand: verheiratet mit Martha Schreiber
geb. Langbein

Schulen: 4 Jahre Volksschule in Schwabering
und Prien/Ch.
9 Jahre Gymnasium in Prien/Ch. und
München, Abitur 1966

Wehrdienst: 2 Jahre Gebirgsspionier in Brannenburg/
Inn, Entlassung 1968 als Leutnant d.R.

Studium: 1968 bis 1975
13 Semester Jura an der Universität
München

Beruf: 1975 bis 1977
Angestellter bei der Hamburg-Mannheimer-
Versicherungsgesellschaft, München

Studium: 1977 bis 1982
10 Semester Tiermedizin an der
Universität München mit Abschluß
Staatsexamen

Promotion: Seit 1982 Doktorand bei Herrn
Prof. Dr. H. Zucker, Institut für
Physiologie, Physiologische Chemie
und Ernährungsphysiologie der
Tierärztlichen Fakultät der
Universität München

